

Legionella B.C.Y.E. (gélose)

DM258

Utilisation

Milieu de base pour l'isolement des légionelles à partir d'échantillons cliniques et de l'environnement.

Présentation

Voir étiquette sur la boîte.

Formule*

Composants:	Concentration:
Charbon actif	1,5 g/litre
Extrait de levure	10,0 g/litre
Tampon ACES	6,0 g/litre
Pyrophosphate ferrique	0,25 g/litre
α -cétoglutarate	1,0 g/litre
Agar	12,0 g/litre
pH final: $6,9 \pm 0,2$	

Conservation

Toutes les boîtes doivent impérativement être bien fermées et stockées jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette dans un endroit sec à une température de 10 à 25°C.

Précautions

Usage In Vitro uniquement. Observer les règles de sécurité et d'hygiène en vigueur. Ne peut être utilisé que par du personnel de laboratoire qualifié. Stériliser les effluents biologiques dangereux avant de les éliminer. Se référer à la fiche de sécurité du produit (disponible sur demande ou via le site internet MAST®).

Matériels nécessaires non fournis

Réactifs et équipements microbiologiques standards (anses, suppléments sélectifs MAST®, écouvillons, ensemencement, autoclaves et incubateurs, etc...) ainsi que des réactifs sérologiques et biochimiques et des additifs tels que le sang.

Préparation

- Se référer à l'étiquette de la boîte pour les volumes et quantités nécessaires. Préparer la gélose Legionella BCYE MAST® (DM258D) en dissolvant la poudre dans de l'eau distillée ou désionisée. Pour les sachets de milieu, dissoudre tout le contenu du sachet dans le volume d'eau inscrit sur l'étiquette.
- Autoclaver à 121°C pendant 15 minutes.
- Refroidir à 50 à 55°C et maintenir à cette température dans un bain marie. Ajouter le supplément de croissance MAST® SELECTAVIAL L-cystéine (SV35).
- Si nécessaire le milieu peut être rendu sélectif par ajout du supplément MAST® SELECTATAB Legionella (MWY) (MS36) ou du supplément MAST® SELECTAVIAL Legionella (PNV) (SV37).
- Bien agiter le milieu afin d'assurer la mise en suspension du charbon.

- Couler le milieu en boîtes de Pétri (20 ml par boîte) et laisser reposer. Les boîtes de Pétri à un seul ergot sont préférables car elles aident à retenir l'humidité qui favorise le développement des légionelles.
- Les boîtes préparées peuvent être utilisées immédiatement ou stockées dans des sacs en plastique à 2 à 8°C pendant une semaine au plus.
- Les boîtes de milieu doivent être sèches avant d'ensemencer directement des échantillons à la surface du milieu. Si des boîtes sélectives ont été préparées, il est conseillé, comme dans toute technique de culture sélective, d'inclure une boîte non-sélective en parallèle.
- Incuber à 35 à 37°C en chambre humide, de préférence sous atmosphère à 2,5% de CO₂ pendant 3-7 jours.

Interprétation des résultats

Après incubation noter la croissance des germes. Les caractères typiques à noter comprennent: taille, morphologie des colonies et pigmentation. Les colonies de *L. pneumophila* sont blanches-bleuâtres et translucides.

La L-cystéine est indispensable à la croissance des légionelles. Les germes qui se développent sur la gélose B.C.Y.E. additionnée de L-cystéine-HCl et ne se développent pas sur la gélose B.C.Y.E. sans supplément, sont identifiés comme étant des légionelles présomptives. Ce test est facile à réaliser car il suffit d'utiliser le supplément L-cystéine MAST®.

Contrôle de qualité

Vérifier tous signes de détérioration. Le contrôle de qualité doit être effectué avec au moins une souche pour qu'il soit valide. Ne pas utiliser le produit si le résultat d'une souche de contrôle est incorrect. La liste ci-dessous montre la performance de souches de contrôle que l'utilisateur peut se procurer facilement.

Souches test	Résultat*
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	Croissance
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Pas de croissance

*Ces résultats sont représentatifs de ceux obtenus avec une gélose Oxford MAST®.

Références

Bibliographie disponible sur demande.