



## Consortium Legio-MBD

### Mise au point d'un kit quantitatif legionella pneumophila viables par cytométrie en phase solide.

**Légio-MBD est un consortium de recherche** regroupant des académiques, des centres de références, des industriels et un panel d'utilisateurs pour finaliser la mise au point d'un kit rapide et quantitatif innovant permettant de **quantifier les legionella pneumophila viables** par cytométrie en phase solide avec une **sensibilité, une sélectivité, et une rapidité inégalées** utilisant les **anticorps anti-legionella pneumophila Dresden Panel** de renommée mondiale pour leur spécificité.

Vous utilisez la cytométrie en phase solide, rejoignez notre consortium. Vous **mettrez à disposition vos compétences**, et bénéficierez d'une **veille technologique et scientifique**, et de la **mise au point finale d'un protocole couplant viabilité et marquage**, et de kits mis à disposition avant leur commercialisation officielle à des **tarifs très préférentiels**. Vous aurez aussi l'**assurance** que les kits commerciaux disponibles seront **compatibles** et que les **paramètres de réglage de votre cytomètre en phase solide** soient parfaitement adaptés.

#### La spécificité et la sensibilité des anticorps Dresden Panel publiés et validés pour leur spécificité et sensibilité en cytométrie en phase solide par EDF.



Visualisation par microscopie par épifluorescence du marquage des anticorps Dresden Panel d'une enveloppe de lipopolysaccharide produite autour de légionella pneumophila sg1.

On voit distinctement les batonnets de légionella pneumophila marquées à l'intérieur.

**L'analyse quantitative légionella pneumophila totales par cytométrie en phase solide utilisant nos anticorps déjà publiée et validée sur échantillons ECS par EDF...**

**Une méthode de légionella pneumophila viables validée pour cytométrie en phase solide mise au point pour l'eau chaude sanitaire utilisant nos anticorps en attente de publication...**

#### La sécurité d'approvisionnement des anticorps Dresden Panel garantie .....

L'Institut de Microbiologie et d'Hygiène de Dresde s'est engagé officiellement à ce que Microbiodetection soit le seul producteur et distributeur de kit en cytométrie en phase solide pour legionella spp et legionella pneumophila utilisant leurs anticorps.

TABLE 1. Non-Legionella strains used for the specificity test of the immunofluorescence staining protocol

Strain	Reactivity <sup>a</sup> with antibody against the following <i>L. pneumophila</i> ag(s):			
	1 (NRCL)	1, 6, 7, 12 (Accurate Chemical & Scientific)	1 (MAbs from Dresden)	2, 6, 8, 10, 12, 15 (MAbs from Dresden)
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	-	-
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	-	-	-	-
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	-	-	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	-	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	-	-	-
<i>Pseudomonas diminuta</i>	+	-	-	-
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas putida</i>	-	-	-	-
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	-	-	-	-
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	NT	NT	-	-
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	-	-	-	-
<i>Brevundimonas vesiculata</i> (3 strains)	NT	+	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	NT	+	-	-

<sup>a</sup> -, negative reaction; +, positive reaction; NT, not tested.

**De nouveaux marqueurs fluorescents utilisables avec les anticorps Dresden Panel et excitables à 488 nm disposant de Stock shift et de Quantum yields suffisants sans overlap avec les spectres d'émissions du marquage de viabilité sont disponibles.....**

#### Public visé.

Toute entité, intéressée par la détection rapide de légionella pneumophila viables et utilisateur de la cytométrie en phase solide.

La société MBD se réserve le droit de refuser l'adhésion au consortium à toute entité pour des raisons de concurrence industrielle.

### **Bibliographie scientifique :**

#### **Monographie des anticorps Dresden Panel:**

**Journal of Clinical Microbiology**, Nov. 1997, p. 2841–2845 **Antigenic Lipopolysaccharide Components of Legionella pneumophila Recognized by Monoclonal Antibodies: Possibilities and Limitations for Division of the Species into Serogroups.** Helbig et al

#### **Protocole d'analyse en cytométrie en phase solide publié par EDF:**

**Applied and Environmental Microbiology** Mar. 2004, p. 1651–1657

Rapid Detection and Enumeration of *Legionella pneumophila* in Hot Water Systems by Solid-Phase Cytometry  
Helena Aurell et al

Le projet est coordonné par la société MicroBioDetection à l'initiative du consortium. Elle s'appuie sur un comité scientifique et d'utilisateurs qui définit le programme de recherche nécessaire au déroulement du projet, discute des résultats obtenus et détermine les spécifications finales du kit commercial (ajustement des protocoles, équipements nécessaires, flaconnage,...). L'ensemble des participants du consortium ont la possibilité d'assister aux réunions du comité et ont la possibilité, s'ils le souhaitent de prendre part aux décisions (1 voie par entité participante).

### **Structure de gouvernance :**

Le projet est coordonné par la société MicroBioDetection à l'initiative du consortium. Elle s'appuie sur un comité scientifique et d'utilisateurs qui définit le programme de recherche nécessaire au déroulement du projet, discute des résultats obtenus et détermine les spécifications finales du kit commercial (ajustement des protocoles, équipements nécessaires, flaconnage,...). L'ensemble des participants du consortium ont la possibilité d'assister aux réunions du comité et ont la possibilité, s'ils le souhaitent de prendre part aux décisions (1 voie par entité participante).

#### **1<sup>er</sup> volet du Programme de Développement: pour échantillons ECS et Eau potable**

- optimisation marquage Dresden Panel + viabilité sans overlap avec une seule source d'excitation adopté aux fenêtres de détection des différents PMT du cytomètre en phase solide
- optimisation réglage hardware et software cytomètre en phase solide pour la discrimination des légionella pneumophila viables
- industrialisation du protocole final et mise au point des trousse de diagnostic
- établissement des seuils de sensibilité et de sélectivité
- robustesse du kit en présence de contaminants chimiques ou biologiques
- benchmark avec les autres techniques disponibles

#### **Frais de participation Premier Volet de Développement**

Les frais de participation au consortium s'élève à 7 500 € sur 12 mois.

Ils comprennent :

- Frais d'inscription et de participation à 3 réunions de travail (Kick-off, Mi-parcours, Finale) : 2 000 €
- Frais de participation à la production de kits bêta-tests (75 kits de chaque / participant) :
  - Legionella pneumophila sg1 : 1 000 €
  - Legionella Pneumophila : 1 000 €
- Frais de participation à l'achat de consommables (dont production lots d'anti-corps Dresden Panel) : 1 500 €
- Frais de participation aux frais de personnels (Chercheurs/Techniciens) : 2000 €
- *D'autres formules sont envisageables pour les établissements publics.*



#### **Information et bulletin d'inscription :**

**Contact: Charles CERVIN**

**2 rue de la Mas – 55200 Commercy**

**Tel : 01 30 24 98 86 – portable : 06 62 14 81 56.**

**Email: legionellaatp@aol.com**