

Especificación

Suplemento para el aislamiento de *Legionella*.

Presentación

10 Viales liofilizados

Vial

con: 6 ± 0.1 g

Encajado

1 caja con 10 viales de vidrio de $22 \pm 0,25 \times 55 \pm 0,5$ mm, con tapón de plástico. Etiquetados.

Caducidad

36 meses

Almacenamiento

2-8 °C

Composición

Composición (g/vial)

Glicina (libre de amonio).....	1,5000
Vancomicina.....	0,0005
Polimixina B sulfato.....	0,0032
Natamicina.....	0,1000
Púrpura de bromocresol.....	0,0050
Azul de bromotimol.....	0,0050

Nota: cada vial es suficiente para completar 500 ml de Legionella BCYE Agar Base (1311).

Reconstituir con la adición de :

Agua destilada estéril..... 10 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

La Base de Agar para Legionella BCYE y sus suplementos han demostrado ser óptimos para el cultivo de Legionella con periodos de incubación más cortos a partir de muestras ambientales y clínicas.

La adición de agentes antimicrobianos da selectividad al medio. El azul de bromotimol y el púrpura de bromocresol colorean las colonias permitiendo la identificación de los microorganismos. La ISO 11731 recomienda el siguiente procedimiento para el aislamiento de Legionella y su recuento en muestras de agua. Las muestras se concentran mediante filtración por membrana, se diluyen o se inoculan directamente en placa dependiendo del origen y las características de la muestra. Fracciones independientes de la muestra diluida deberían someterse a tratamientos con calor o ácido en caso de prever una alta concentración de Legionella y otras bacterias. Estas muestras se transfieren a las placas con el medio de cultivo selectivo elegido para Legionella.

Técnica:

Reconstituir asépticamente 1 con 10 ml de agua destilada o desionizada. Mezclar suavemente hasta la disolución completa y agregar asépticamente a 500 ml de medio Agar para Legionella BCYE ISO (Cat. 1311 + Cat. 6022) enfriado a 50 °C. Mezclar bien y distribuir en recipientes estériles.

Para el cultivo de legionella según la ISO 11731:

Si la muestra contiene una alta concentración de Legionella y una baja concentración de microorganismos interferentes:

- Inocular directamente 0,1-0,5 ml de la muestra distribuyéndola uniformemente sobre una placa de Agar BCYE (Cat. 1311 + Cat. 6022) y sobre una placa BCYE+AB.

Si la muestra contiene una baja concentración de Legionella y una baja concentración de microorganismos interferentes: - Filtrar por membrana la muestra inicial.

- Colocar el filtro de membrana sobre la placa BCYE.

- Repetir el proceso para el agar GVPC (Cat. 1311 + Cat. 6025) y/o agar MWY (Cat. 1311 + Cat. 6067).

Si la muestra contiene una alta concentración de microorganismos interferentes:

- Se inoculará directamente, concentrada o diluida.

- Dividir cada tipo de muestra en tres porciones. Una de ellas se utilizará sin tratar, la segunda se somete a un tratamiento térmico y la tercera a un tratamiento ácido.

- Inocular 0,1-0,5 ml sobre placas de agar GVPC y agar MWY.

Si la muestra contiene una cantidad extremadamente alta de microorganismos interferentes: - Se inoculará directamente y diluida.

- Cada muestra se somete a un tratamiento combinado térmico y ácido.

- Inocular 0,1-0,5 ml sobre placas de agar GVPC y agar MWY.

- Dejar reposar las placas sembradas hasta que el inóculo se haya absorbido e incubar a 36 ± 2 °C durante 7-10 días. - Confirmar las colonias presuntivas de Legionella en agar BCYE y agar BCYE-cys.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Beige claro

pH: a 25°C

Control de Fertilidad

Añadir 1 vial a 500 ml de medio base. NO CALENTAR una vez suplementado.

Inocular: rango práctico 100 ± 20 UFC; Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ (Selectividad)

Aerobiosis. Incubación a 36 ± 2 °C. Lectura 2 - 5 días.

Control microbiológico según norma ISO 11133:2014/A1:2018.

Microorganismo

L. pneumophila ATCC® 33152, WDCM 00107 (by MF)

Legionella pneumophila ATCC® 33152, WDCM 00107

Escherichia coli ATCC® 25922, WDCM 00013

Desarrollo

Bueno (≥ 70%) colonias gris-azul

Bueno (≥ 70%) colonias gris-azul

Inhibido

Control de Esterilidad

100 ml TSB y 100 ml Tioglicolato.

Bibliografía

Feeley J.C., Groman G.W., Weaver R.E., Mackel D.C..

International standard ISO 11731 water quality- Detection and enumeration of Legionella.