

Especificación

Suplemento selectivo para la confirmación de falsos positivos de legionella spp.

Presentación

5 Viales liofilizados + 5 Viales Reconstitución
Vial
con: ± 0.1 ml

Encajado

1 caja con 10 viales con tapón de plástico y etiquetados (5 viales liofilizados + 5 viales con líquido de hidratación).

Caducidad

36 meses

Almacenamiento

2-25 °C

Composición

Composición (g/vial):

Cantidad necesaria para suplementar 500ml de medio.

Tampón ACES..... 5.000 g
(N-2-acetamida-2-aminoetanosulfónico ácido)
Hidróxido potásico..... 1.400 g
Pirofosfato férrico..... 0.125 g
Alfa-ketoglutarato potásico..... 0.500 g

reconstituir el vial añadiendo

1 vial de :

Disolvente estéril..... 9 ml

Descripción/Técnica

Descripción:

Suplemento selectivo que no contiene cisteína, factor de crecimiento esencial para *Legionella*, que permite confirmar falsos positivos si llegan a crecer en el medio.

Técnica:

Recoger, diluir y preparar muestras y volúmenes según sea necesario de acuerdo a las especificaciones, directivas, reglamentos oficiales estándar y / o resultados esperados.

Reconstituir el vial con el diluyente adjunto, en condiciones asépticas y agregarlo a 500 ml de medio base AGAR BASE BCYE *Legionella*, previamente fundido y enfriado a 47-50 °C. Mezclar suavemente y verter en placas de Petri.

Las placas inoculadas se dejan reposar hasta que han absorbido el inóculo y entonces se incuban, invertidas a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ de 4-10 días. Para asegurar que la atmósfera esté suficientemente húmeda es recomendable poner un recipiente con agua en la estufa y rellenarla, si es preciso, cada vez que se examinen las placas. La incubación en una atmósfera de aire con un 2,5% (v/v) de CO_2 puede ser muy beneficiosa para el crecimiento de algunas legionelas, pero no es crítico.

Las placas se examinan con una lupa adecuada, al menos en tres ocasiones a intervalos de 2,3,5 días durante el periodo de incubación, ya que las legionelas son de crecimiento lento y pueden quedar enmascaradas por el crecimiento de otros microorganismos.

Las colonias de *Legionella* no pueden crecer en este medio, por la falta de la cisteína.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Amarillento

pH: a 25°C

Control de Fertilidad

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

Inocular 30-300 UFC (Productividad) 1.000-10.000 UFC (Selectividad)

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020

Aerobiosis. Incubación a $36 \pm 2^\circ\text{C}$. Lectura 2 - 5 días.

Microorganismo

Legionella pneumophila ATCC® 33152, WDCM 00107

Stph. epidermidis ATCC® 12228, WDCM 00036

Desarrollo

Negativo

Bueno

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35 °C y 48 horas a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO



Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. BocaRaton. Fla. USA.
- CLESCERI, L.S., A.E. GREENBERG & A.D. EATON (1998) Standard methods for the examination of water and wastewater. 9-106. 20th edition. APHA-AWWA-WEF. Washington DF, USA.
- EDELSTEIN, P.H., (1981) Improved semiselective medium for the isolation of *Legionella pneumoniae* from contaminated clinical and environmental specimens. J. Clin Microbiol. 14(3):298.
- FEELEY, J.C., R.J. GIBSON, G.W. GORMAN, N.C. LANGFORD, J.K. RASHEED, C.D. MACKEL, & W.B. BAINE (1979) Charcoal-Yeast Extract Agar: Primary isolation medium for *Legionella pneumophila*. J. Clin. Microbiol. 10(4) 437.
- ISO 11731 Standard (2017) Water Quality - Enumeration of *Legionella*.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018/ Adm1 :2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- MacFADDIN, J.F. (1985) Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria.
- PASCULLE, A.W., J.C. FEELEY, R.J. GIBSON, L.G. CORDES, R.L. MYEROWITZ, C.M. PATTON, G.W. GORMAN, C.L. CARMACK, J.W. EZZELL & J.N. DOWLING (1980) Pittsburgh pneumonia agent: Direct isolation from human lung tissue. J. Infect. Dis., 141:727.
- UNE-EN ISO 11133 (2014). Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua.-Preparación, producción, conservación y ensayos de rendimiento de los medios de cultivo.
- WARD, K.W. (1995) Processing and interpretation of specimens for *Legionella spp.* In "Clinical Microbiology Procedures Handbook" Chap. 12.1 edited b H.D. Isenberg. ASM Press. Washington DC, USA.