

Suplemento para Legionella GVPC ISO

Cat. 6025

Suplemento selectivo para el aislamiento de Legionella spp.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Recuento selectivo	Legionella
Aislamiento selectivo	Legionella

Industria: Aguas de consumo

Regulaciones: ISO 11133 / ISO 11731

Principios y usos

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

Feeley et al. describieron una modificación del Agar F-G en el que la caseína ácida hidrolizada se reemplazó por el extracto de levadura como fuente de proteína, y el almidón se reemplazó por el carbón activado. Este medio, al que denominaron Agar CYE, se ha complementado con Buffer ACES y a-cetoglutarato. Actualmente, en la literatura se denomina como Medio BCYE-a, y se ha demostrado que propicia una recuperación óptima de Legionellaceae en un período de incubación más corto a partir de muestras ambientales y clínicas.

La cicloheximida es un antibiótico que inhibe los hongos saprófitos pero permite el crecimiento de los hongos patógenos. La vancomicina es un antibiótico glicopeptídico usado para la inhibición de bacterias Gram-positivas. El sulfato de polimixina B es un antibiótico para las bacterias gramnegativas.

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.

Fórmula por vial

Cicloheximida (mg)	40	Sulfato de Polimixina B (UI)	40000
Vancomicina (mg)	0,5	Glicina (g)	1,5

Preparación

Reconstituir asépticamente 1 vial hasta aproximadamente el 80% del volumen con 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.

Instrucciones de uso

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 interfeferentes:

- 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. 6022 + Cat. 6025) y/o Agar MWY (Cat. 1311 + Cat. 6022 + 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 GVPV 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

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
		N/A	N/A	N/A

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (37 °C / 3 días)

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Pseudomonas aeruginosa ATCC 25668	Inhibición	
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición	
Legionella pneumophila ATCC 33152	Buen crecimiento	Colonias de color blanco-gris-azul-púrpura con el borde completo y apariencia característica de vidrio esmerilado.

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C
Temp. Max.: 8 °C

Bibliografía

ISO 11731 water quality- Detection and enumeration of Legionella.