

Base de Agar Legionella + ACES + Alpha Ketoglutarico + Pirofosfato Férrico ISO

Cat. 1557

Medio selectivo para el cultivo de Legionella.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Confirmación	Legionella

Industria: Aguas de consumo / Clínica

Regulaciones: ISO 11731

Principios y usos

La Base de Agar Legionella + ACES + Alpha Ketoglutarico + Pirofosfato Férrico se basa en la Base de Agar para Legionella BCYE (Cat. 1311). Este medio completo no contiene cisteína con el fin de realizar la confirmación de Legionella. El medio con cisteína se utiliza para el enriquecimiento. El medio 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.

El extracto de levadura proporciona vitaminas, en particular del grupo B, y otros cofactores de crecimiento. El pirofosfato férrico y el alfa-cetoglutarato se incorporan para satisfacer los requisitos nutricionales específicos de las especies de Legionella. La adición del tampón ayuda a mantener el pH adecuado para un crecimiento óptimo. El carbón activado es un agente protector que neutraliza y absorbe los metabolitos tóxicos producidos por el crecimiento bacteriano. Descompone el peróxido de hidrógeno, un producto metabólico tóxico, y también puede recoger CO₂ y modificar la tensión superficial. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Morfología de las colonias después de la incubación a 35 °C tras 48-60 horas:

L. pneumophila: 1-2 mm de diámetro (aumenta después de una nueva incubación). Blancas, relucientes, circulares, lisas, elevadas con borde entero.

L. gormanii: 1-2 mm de diámetro. Crema, mucoides, ligeramente elevadas.

Otras Legionellae: 1-2 mm de diámetro (aumenta después de una nueva incubación). Blancas, relucientes, circulares, lisas, elevadas con borde entero.

Fórmula en g/L

Tampón ACES	10	Carbón activado	2
Alfa-cetoglutarico	1	Agar bacteriológico	13
Pirofosfato férrico	0,25	Extracto de levadura	10

Preparación

Suspender 2,4 gramos de KOH en 500 ml de agua destilada. Suspender 36,25 gramos del medio en 500 ml de agua destilada. Mezclar ambos. Disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C y, si se desea, agregar asépticamente 1 ml de 1 vial de Suplemento para Legionella GVPC (Cat. 6025), previamente reconstituido con 5 ml de agua/acetona 1:1 estéril y 4 ml de una solución estéril de 10% L-Cisteína. Mezclar bien y distribuir en recipientes adecuados.

Precaución: El Suplemento para Legionella GVPC contiene cicloheximida y es muy tóxico si se ingiere, inhala o entra en contacto con la piel. Usar guantes y protección para los ojos y cara.

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 Base de Agar para Legionella BCYE 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 y/o agar MWY.

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.

Para la confirmación de las colonias presuntivas de Legionella:

- Subcultivar aquellas placas que contengan un mayor número de colonias en Agar BCYE y en Agar Legionella + ACES + Alpha Ketoglutárico + Pirofosfato Férrico.

- Incubar ambas placas a 36 ± 2 °C durante 2-5 días.

- Se consideran Legionella aquellas colonias que crecen en Agar BCYE pero no en el Agar Legionella + ACES + Alpha Ketoglutárico + Pirofosfato Férrico.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Sin restos	Polvo fino	Negro	Negro	6,9±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (36 ± 2 °C / 2-5 días).

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Staphylococcus epidermidis ATCC 12228	Inhibición total	
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición total	
Legionella pneumophila ATCC 33153	Buen crecimiento	Colonias de color blanco

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

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

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