

## Medio preparado Oxoid

### Oxoid Legionella BCYE $\alpha$ Medium with L-Cysteine

REF PO5072A

#### Uso previsto

IVD

El medio Thermo Scientific™ Oxoid™ Legionella BCYE $\alpha$  Medium with L-Cysteine se utiliza para el aislamiento y el cultivo de las especies de *Legionella*.

Este producto es para uso profesional (uso diagnóstico *in vitro*) solamente.

#### Resumen y explicación

La legionelosis, también conocida como enfermedad del legionario, se identificó por primera vez con motivo de un brote de neumonía en julio de 1976. Tras celebrarse una reunión de la Legión Estadounidense en el hotel Bellevue Stratford de Filadelfia, Pensilvania, se registraron aproximadamente 182 casos de la enfermedad entre excombatientes y otras personas que se encontraban en el hotel o en las inmediaciones. Fraser et al.<sup>1</sup> proporcionan una descripción del brote. Se descubrió que el organismo es una bacteria gramnegativa y se nombró *Legionella pneumophila*. No tuvo crecimiento en el agar de triptona de soja, pero se aisló con éxito en el agar Mueller-Hinton suplementado. Ya en 1943 Tatlock<sup>2</sup> había aislado el microorganismo. Tras analizar las muestras almacenadas procedentes de casos anteriores, se puso de manifiesto que el microorganismo podría haber sido responsable de otras infecciones. En la actualidad, existen más de 50 especies de *Legionella*, de las cuales al menos la mitad se ha asociado a enfermedades en personas. Las bacterias del género *Legionella* se han encontrado en un amplio rango de hábitats acuáticos, incluyendo torres de refrigeración y condensadores en sistemas grandes de acondicionamiento de aire. Las legionelas son una causa importante de neumonía tanto intrahospitalaria como extrahospitalaria, así como de enfermedades asociadas a los viajes. Causan dos síndromes característicos: la legionelosis neumofílica, una neumonía grave, y la fiebre de Pontiac, por lo general menos grave y habitualmente una afección autolimitada. Pueden producirse brotes de estas enfermedades y se suelen detectar en los aparatos de aire acondicionado. Esto ha llevado a la implantación de normas y directrices relativas al mantenimiento de las torres de refrigeración, sistemas de climatización y otros aparatos similares. La bacteria *L. pneumophila* es el agente etiológico más común de la legionelosis y el serogrupo 1 es el que se aísla con mayor frecuencia. Sin embargo, es posible que otras especies sean responsables de esta afección. Feeley et al.<sup>3</sup> investigaron los principales medios de aislamiento para la recuperación de *Legionella*. Uno de los autores, Weaver, examinó la capacidad para favorecer el crecimiento de legionela de 17 formulaciones de medios de cultivo. Se indicó que el agar Mueller-Hinton suplementado con el 1 % de un complemento de crecimiento definido y el 1 % de hemoglobina era el medio adecuado. El medio se analizó y se descubrió que el suplemento de crecimiento definido se podía reemplazar con clorhidrato de L-cisteína y hemoglobina con pirofosfato férrico soluble. Se consideró que el pH óptimo del medio era 6,9. Las legionelas crecieron mejor a 35 °C con un 2,5 % de dióxido de carbono. El medio se denominó agar de Feeley-Gorman (F-G). Feeley et al.<sup>4</sup> prosiguieron con la descripción del agar CYE, una modificación del agar F-G. El extracto de levadura se reemplazó con caseína ácida hidrolizada y se añadió carbón activado; el medio también se podía incubar en condiciones aerobias. El extracto de ternera y el almidón se omitieron de la formulación. Pasculle et al.<sup>5</sup> añadieron tampón ACES y ajustaron el pH final a 6,9 con hidróxido de potasio en lugar de hidróxido de sodio. Este medio se denominaba agar BCYE (extracto de levadura con carbón tamponado). Edelstein<sup>6</sup> describió la adición de ácido  $\alpha$ -cetoglutarato para mejorar el crecimiento con el uso del medio CYE como base.

#### Principio

El extracto de levadura es una fuente de nutrientes. El tampón ACES se añade para garantizar el pH correcto. Se añaden L-cisteína y pirofosfato III como factores de crecimiento y el ácido  $\alpha$ -cetoglutarico mejora el crecimiento. El carbón activado se añade para que absorba los metabolitos tóxicos.

#### Fórmula típica\*

	gramos por litro
Carbón activado	2,0
Extracto de levadura	10,0
Tampón ACES	10,0
Hidróxido de potasio	2,8
Agar	13,0

#### Adiciones

Pirofosfato de hierro (III)	0,25
Clorhidrato de L-cisteína	0,4
$\alpha$ -cetoglutarato	1,0

\* Ajustada para satisfacer criterios de rendimiento.

#### Características físicas

Color	Negro tráfico a negro intenso
Claridad	Opaco
Peso de llenado	17 g $\pm$ 5 %
pH	6,8 $\pm$ 0,2

#### Precauciones

Este producto es para uso diagnóstico *in vitro* y solo deben utilizarlo personas con la formación adecuada. Esto incluye la eliminación de reactivos usados o sin usar, así como cualquier otro material desechable contaminado siguiendo los procedimientos para productos infecciosos o potencialmente infecciosos. Es responsabilidad de cada laboratorio manipular los desechos generados de acuerdo a su naturaleza y grado de peligro y tratarlos o eliminarlos de acuerdo a las regulaciones federales, estatales y locales aplicables. Las instrucciones se deben leer y cumplir estrictamente.

Únicamente para uso profesional. Puede solicitar las hojas de datos de seguridad.

#### Conservación

Este producto está listo para su uso y no requiere preparación. Conserve el producto en su envase original a una temperatura de entre 2 y 12 °C hasta su uso. Debe almacenarse protegido de la luz. Deje que el producto alcance la temperatura ambiente antes de usarlo. No lo incube antes de su uso.

#### Recogida, manipulación y almacenamiento de muestras

Las muestras deben tomarse y manipularse de acuerdo con las pautas recomendadas.

#### Materiales necesarios, pero no suministrados

- (1) Asas de inoculación, hisopos, recipientes recolectores
- (2) Estufas de incubación
- (3) Microorganismos de control de calidad

Puede encontrar más información en [www.thermofisher.com](http://www.thermofisher.com)

#### Procedimiento

##### Muestras clínicas

Consulte las directrices o los protocolos. Las muestras se pueden examinar primeramente con el microscopio mediante la tinción de anticuerpos fluorescentes.

- (1) Inocule la muestra en el medio y siembre en estrías para obtener colonias aisladas.

- (2) Si el material se está cultivando directamente de un hisopo, gire el hisopo sobre un área de superficie pequeña y haga estrías para aislar colonias individuales.
- (3) Incube las placas durante un máximo de 10 días a 36 °C ± 1 °C en una atmósfera húmeda.

La incubación en una atmósfera de 2,5 % de dióxido de carbono puede mejorar el crecimiento de algunas bacterias del género *Legionella*.

#### Muestras ambientales

Consulte la normativa correspondiente para conocer el método completo<sup>7</sup>.

Las colonias de *L. pneumophila* tienen un aspecto blanco-verde-azul con un máximo de 2 mm de diámetro con apariencia de vidrio deslustrado. Las colonias de todas las bacterias de *Legionella* exhiben la misma apariencia general, pero pueden tener colores diferentes. Entre los colores que se exhiben se incluyen el marrón, verde limón, rojo intenso y azul-morado. En el primer aislamiento, las colonias de *Legionella* lucen como bacilos gramnegativos pequeños. Las bacterias de *Legionella* tienen el requisito absoluto de L-cisteína. Se pueden realizar subcultivos a las colonias en el medio BCYE con L-cisteína y en el medio BCYE sin L-cisteína o agar con sangre. Las colonias que crecen únicamente en el medio BCYE con L-cisteína son presuntas bacterias de *Legionella*. El crecimiento en ambas placas indica que el microorganismo no pertenece al género *Legionella*, con la excepción de algunas cepas de *L. oakridgensis* que ya no requieren la L-cisteína.

#### Control de calidad

Este medio se puede analizar con las cepas que se indican a continuación:

Condiciones de incubación: 48-120 horas a 36 ± 2 °C, atmósfera húmeda

Controles positivos	
Inóculo de 50-120 unidades formadoras de colonias (ufc).	
Cepa analizada mediante filtración por membrana.	
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC™33152 (WDCM 00107)	Colonias grises-azules de 2 a 6 mm
Cepa analizada mediante el método de extensión en placa.	
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC™33156 (WDCM 00180)	Colonias grises-azules de 2 a 4 mm
El recuento de colonias debe ser mayor o igual al 70 % del medio de control (medio BCYE).	

La formulación del medio se ajusta a las normas ISO 11731<sup>7</sup> y NF T90-431<sup>8</sup> y el análisis cumple la norma ISO 11133<sup>9</sup>.

#### Nota:

El usuario es responsable de realizar las pruebas de control de calidad teniendo en cuenta el uso previsto del medio y de acuerdo con cualquier normativa local aplicable (frecuencia, número de cepas, temperatura de incubación, etc.).

No debe utilizarse el producto si:

- (1) El producto está contaminado.
- (2) Ha cambiado el color.
- (3) Ya ha pasado la fecha de vencimiento.
- (4) Hay otros signos de deterioro.

#### Rendimiento

Se evaluó el rendimiento con 17 cepas bacterianas, incluidas las que se indican a continuación: *Legionella pneumophila*, *Legionella anisa*, *Legionella longbeachae*, *Fluoribacter bozemanii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y género *Penicillium*. Todos los microorganismos presentaron las características de crecimiento previstas conforme a la especificación actual del producto.

#### Limitaciones

Este medio no es selectivo, por lo que puede inocularse un medio selectivo al mismo tiempo. Debido a la variación en los requisitos nutricionales, algunas cepas de *Legionella* podrían no crecer en este medio. La identificación obtenida es provisional, por lo que es necesario llevar a cabo métodos bioquímicos, serológicos o de otro tipo para identificar la cepa aislada. Algunos microorganismos termófilos con esporas imitan las colonias de *Legionella* después de la incubación a 35 °C. Estos microorganismos pueden detectarse incubando placas paralelas a 35 °C y 55 °C; los microorganismos crecerán a la temperatura más elevada. No crecen especies del género *Legionella* por encima de los 45 °C.









#### Envasado

<b>PO5072A</b>	Diez placas de 90 mm, envueltas en film transparente
----------------	--

#### Bibliografía

- (1) Fraser D.W. et al (1977) *N. Engl. J. Med.*, 297, 1189-1197.
- (2) Tatlock, H. 1944 *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 57:95-99.
- (3) Feeley J.C., Gibson R.J., Gorman G.W., Langford N.C., Rasheed J.W., Mackel D.C. and Baine W.B. (1979) *J. Clin. Micro.* 10. 437-441.
- (4) Feeley J.C. Gorman G.W., Weaver R.E., Mackel D.C. and Smith H.W. (1978) *J. Clin. Micro.* 8. 320-325.
- (5) Pasculle A.W., Feeley J.C., Gibson R.J., Cordes L.G., Myerowitz R.L., Patton C.M., Gorman G.W., Carmack C.L., Ezzell J.W., Dowling J.N. *J Infect Dis.* 1980 Jun;141(6):727-32.
- (6) Edelstein P.H. (1981) *J. Clin. Micro.* 14. 298-303.
- (7) ISO 11731:2017 *Water quality - Enumeration of Legionella*.
- (8) NF T90-431 August 2017 *Water quality - Detection and enumeration of Legionella spp and Legionella pneumophila - Method by direct inoculation and after concentration by membrane filtration of centrifugation*.
- (9) ISO 11133 - *Microbiology of food, animal feed and water - Preparation, production, storage and performance testing of culture media*.

#### Leyenda de los símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fabricante
	Límite de temperatura (temperatura de conservación)
	Usar antes de (fecha de vencimiento)
	Número de lote
	Proteger de la luz
	Consultar las instrucciones de uso



El emblema ATCC Licensed Derivative®, la marca ATCC Licensed Derivative® y las marcas de catálogo ATCC son marcas comerciales de ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. dispone de las licencias oportunas para usar estas marcas comerciales y comercializar productos derivados de cultivos ATCC™.

© 2020 Thermo Fisher Scientific inc. Reservados todos los derechos. Todas las marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific y sus subsidiarias salvo que se especifique lo contrario. ATCC™ es una marca registrada de American Type Culture Collection. Esta información no pretende fomentar el uso de estos productos de ningún modo que pueda suponer la infracción de los derechos de propiedad intelectual de terceros.



Oxoid Deutschland GmbH  
Postfach 10 07 53, D-46467 Wesel  
Alemania



Versión 3