

Legionella Buffered Charcoal Yeast Extract (BCYE) Agar Base

DM258

Uso previsto

Un medio basal usado en el aislamiento de *Legionella* spp. De muestras clínicas y medioambientales.

Contenido

Ver etiqueta del envase.

Composición*	Concentración del medio:
Carbón activado	1.5 g/litro
Extracto de levadura	10.0 g/litro
ACES buffer	6.0 g/litro
Pirofosfato férrico	0.25 g/litro
α -ketoglutarato	1.0 g/litro
Agar	12.0 g/litro
pH final: 6.9 ± 0.2	

Conservación y caducidad

Todos los contenedores de medios de cultivo deshidratados deben permanecer herméticamente cerrados y almacenados en un lugar seco a 10 a 25°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.

Precauciones

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*. Respetar las precauciones de seguridad y utilizar técnicas asépticas. Debe ser utilizado solo por personal de laboratorio cualificado y con experiencia. Antes del desecho, esterilizar todo el material biológico. Consultar la fecha de seguridad del producto (disponible si se requiere o a través de la página en Internet de MAST®).

Materiales requeridos pero no proporcionados

Accesorios y productos para análisis microbiológico de base, por ejemplo: anillos para análisis, suplementos selectivos MAST®, esponjas, torundas, incineradores y termostatos, etc... Otros, como reactivos bioquímicos y serológicos, y aditivos como sangre.

Procedimiento

1. Referirse a la etiqueta del envase para cantidades y volúmenes requeridos. Preparar MAST® Legionella BCYE Agar Base (DM258D) suspendiendo los polvos en agua destilada o desionizada. Para los envases de sobre, disolver el contenido entero del sobre en el volumen mostrado en la etiqueta.
2. Autoclave a 121°C (15 p.s.i.) durante 15 minutos.
3. Enfriar a 50 a 55°C y mantener a esta temperatura en una cubeta. Añadir MAST® L-cisteína suplemento de crecimiento (SV35).
4. Si se requiere el medio puede hacerse selectivo añadiendo Legionella MAST® SELECTATAB (MWY) (MS36) o Legionella MAST® SELECTAVIAL (PNV) (SV37).

5. Después de la suplementación, rotar 3 a 4 veces e invertir para asegurarse de que el carbón está uniformemente suspendido.
6. Verter en las placas de cultivo (20ml en cada placa) y dejar solidificar. Las placas simples con orificios Petri son preferidas ya que ayudan a retener la humedad favorecida por la *Legionella*.
7. Las placas de cultivo preparadas deben ser usadas inmediatamente o almacenadas en bolsas de plástico a 2 a 8°C hasta un máximo de una semana antes de su uso.
8. Las placas con el cultivo deben ser secadas antes de su uso, y la muestra vertida directamente sobre la superficie del medio suplementado. Si las placas selectivas han sido preparadas es recomendable, como con todas las técnicas de cultivo selectivo, incluir una placa no-selectiva en paralelo.
9. Incubar a 35 a 37°C en una atmósfera humidificada, preferentemente bajo 2.5% CO₂ durante 3 a 7 días.

Interpretación de resultados

Después de la incubación, registrar el crecimiento de microorganismos, las características típicas que se deben observar incluyen: tamaño de la colonia., morfología y pigmentación. Las colonias de *L. pneumophila* son blancas-azuladas y traslucidas en apariencia. Basado en el requerimiento selectivo absoluto de L-cisteína para el crecimiento de *Legionella* spp., a microorganismos a examen que crecen en BCYE El Agar suplementado con L-cisteína-HCl, y no crece en suplementados con BCYE Agar, puede ser presuntivamente identificado como *Legionella* spp. Este examen es fácil de ver su actuación usando el formato MAST®, como L-cisteína es el único componente del suplemento de crecimiento.

Control de calidad

Comprobar si hay signos de deterioro. El control de calidad debe ser llevado a acabo con al menos un organismo que demuestre la actuación esperada. No usar si el resultado del control del microorganismo es incorrecto. La lista de abajo ilustra una variedad de actuaciones de las cepas de control de uso rutinario, que el usuario final puede obtener fácilmente.

Microorganismos	Resultado*
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC® 33152	Crecimiento
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Ningún crecimiento

*Los resultados que se muestran son representativos de los obtenidos en MAST® Selective Legionella Agar

Referencias

Bibliografía disponible si se requiere.