

Apartado de Correos / P.O. Box 44 28210-Valdemorillo (Madrid, Spain) (34) 91 897 46 16 Fax: (34) 91 897 46 41

E-mail: microkit@microkit.es
Web: http://www.microkit.es
Blog: www.medioscultivo.com

Empresa Certificada bajo Norma ISO 9001 desde 1997

MCC P/A CRIOTECA® PLAQUIS® M-IDENT® NEOGRAM COSMETIKIT®
CHROMOSALM
KITPRO-PLUS
SEILAGUA®
ENVIROCOUNT

DRY PLATES®
DESINFECTEST®
CROMOKIT®
SALMOQUICK

MUGPLUS CCCNT MBS AIRESANO

BCSA BURKHOLDERIA COMPLEX SELECTIVE AGAR Base

Agar para aislamiento selectivo y diferencial de *Burkholderia cepacia* COMPLEX (BCC) en medicamentos no estériles (**USP 2019**), aguas, cosméticos, muestras clínicas y otras muestras.

COMPOSICIÓN

Peptona de caseína 10.00 g Extracto de levadura 1.50 g 10.00 g Lactosa 10.00 g Sacarosa Cloruro sódico 5.00 g 0.08 gRojo Fenol Cristal Violeta 0.002 gAgar-agar 11.5 g

(Fórmula por litro)

pH final: ajustar a 6.8 ± 0.2

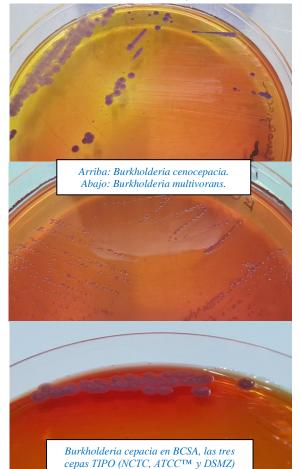
BCSA suplemento selectivo:

Polimixina B 300.000 UI/L Vancomicina 1,25 mg/L Gentamicina 5 mg/L

Añadir cuando el medio autoclavado baje a 45-50° C.

Burkholderia cepacia es una especie muy resistente de bacilos Gram negativos, Oxidasa positivos (a menudo oxidasa-lentos), No Fermentadores de Glucosa, Móviles. Debe el nombre genérico a su descubridor y el específico, a haber sido descubierta por primera vez infectando cebollas. Es frecuente

como saprófito en aguas, ambientes húmedos y suelos. Aunque se encuentra también en



tienen idéntico aspecto en este medio

aguas purificadas: forma biofilms incluso en los sistemas de aguas farmacéuticas. Además, resiste la acción de numerosos conservantes de la industria farmacosmética. Se ha denominado "Complejo *B.cepacia*" (BCC) porque agrupa numerosas cepas: 20 especies fenotípicamente cercanas, con 9 genomo-variedades y diferentes reacciones bioquímicas a las galerías de identificación convencionales, que resultan inútiles con ella. Es una de las bacterias más versátiles que se conocen, capaz de usar más de 200 compuestos como nutrientes, entre los cuales se encuentran antibióticos, desinfectantes, pesticidas, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HPA), tricloroetileno, policlorobifenilos, ftalatos... además de producir sus propios antibióticos para suprimir el crecimiento de otros competidores, así como matrices especiales

para generar biofilms, lo que la hace extremadamente difícil de erradicar una vez se instala en un circuito. Las especies del grupo BCC son patógenos oportunistas en pacientes con ventilación mecánica, inmunodeprimidos, lactantes, ancianos y personas con enfermedad subyacente grave como la fibrosis quística. Un estudio de 7 años en USA demuestra que el 72% de casos de enfermedades infecciosas causadas por medicamentos, cosméticos, productos sanitarios y suplementos dietéticos se debe a patógenos oportunistas no buscados por los fabricantes, y de ellos, el 34% de las veces resultan ser del CBC. La FDA dictó en 2017 una nota advirtiendo del peligro del CBC en aguas y medicamentos no estériles. La elección USP 2019 (capítulo 60) de este medio BCSA (formulado por Henry en 1997) frente a los otros medios diseñados para Burkholderia cepacia (BCA = BCPT-MICROKIT -agar piruvato- y OFPBL -agar oxidación fermentación-) se debe a su capacidad para detectar de forma más rápida el crecimiento de los aislados de BCC y para suprimir de forma más selectiva los microorganismos acompañantes. La mezcla de dos azúcares permite la detección de la más amplia gama del complejo B.cepacia y el rojo fenol permite su detección por acidificación (viraje de rojo a amarillo). El cristal violeta y la mezcla antibiótica evitan los falsos positivos incluso de los microorganismos más cercanos, como Pseudomonas aeruginosa.

PREPARACIÓN

Disolver 48 g de medio en 1 litro de agua bidestilada. Calentar hasta ebullición, agitando hasta la total homogeneización. No sobrecalentar. Autoclavar a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 °C y añadir 10 ml de solución BCSA Suplemento estéril selectivo (SMT405).

Los antibióticos polimixina, gentamicina y vancomicina del suplemento SMT405 restringen la productividad de algunas cepas de *B.cepacia*, por lo que no conviene usarlos para recuentos. Y lo cual también invita a usar dos medios de aislamiento para este patógeno, el presente BCSA y además, BCPT ó BCPT cromogénico.

PARA USO EXCLUSIVO EN LABORATORIO. AGITE EL BOTE ANTES DE USAR. MANTENGA EL BOTE BIEN CERRADO, EN LUGAR SECO, FRESCO Y OSCURO. DESHIDRATADO CÓDIGO: DMT271

CONTROL DE CALIDAD DEL MEDIO

Realizado en nuestro laboratorio; es prudente repetirlo en su laboratorio siempre que varíen las condiciones (más de 3 meses sin usar, tras desinfectar laboratorio, tras conservar a alta T^a, cuando adquiere aspectos extraños aunque no haya llegado la fecha de caducidad teórica de la etiqueta....).

DESHIDRATADO: Polvo, rosado-asalmonado PREPARADO: Estéril, rojo-anaranjado CONTROL DE CRECIMIENTO 24-48 h a 35°C aproximadamente:

Burkholderia cepacia MKTA 25416, Crece con colonias típicas y vira el medio de debajo y alrededor de las colonias. Con respecto a TSA, productividad >50 %.

Burkholderia cepacia MKTN 10743, Crece con colonias típicas y vira el medio de debajo y alrededor de las colonias. Con respecto a TSA, productividad >50 %.

Burkholderia cenocepacia MKTA BAA-245, Crece con colonias viláceas, lobuladas y viraje amarillo alrededor.

Pseudomonas aeruginosa WDCM 00026, Inhibido Bacillus subtilis WDCM 00003, Inhibido Staphylococcus aureus WDCM 00032, Inhibido Escherichia coli WDCM 00013, Inhibido

MODO DE EMPLEO Y LECTURA DE RESULTADOS

Medicamentos no estériles para inhalación o preparaciones acuosas para uso oral, nasal o cutáneo: Enriquecer 1-10g en 9-90 ml de TSB (Ref: deshidratado en Ecogránulos DMT129G, frascos RPL043, ecofrascos ECOF33). Sembrar en estría sobre una placa de BCSA.

Cosméticos: Enriquecer 1-10g de en 9-90 ml del caldo neutralizante adecuado, preferiblemente LPT Neutralizing Broth (Ref: deshidratado DMT217, frascos RPL054), como muy bien saben los participantes de intercomparativos cosméticos. Sembrar en estría sobre una placa de BCSA.

Aguas: Sembrar en la superficie de la placa de BCSA, una membrana por la que se hayan filtrado 100 ml de muestra) e incubar a 30-35°C durante 48-72 horas. Es mucho más recomendable enriquecer 100 ml de agua en el caldo cromogénico P/A (Ref: frascos tomamuestras RPL323, viales prepesados FPA904, polvo estéril con cucharilla dosificadora DMTI904-) simplemente 18 horas a 30-35°C y después sembrar en estría los frascos que hayan virado a rojo-vino tinto (presuntivos), en la placa de BCSA. Porque la filtración de membrana es un método estresante/destructivo e impide el crecimiento de los microorganismos subletales, ya que está diseñada para recuentos, no para detección de patógenos. Y añadir sólo 10 mL de agua a 90 mL de TSB para enriquecer previamente, no es una muestra representativa, porque en el agua, las formas planctónicas del CBC son sólo formas de colonización lanzadas por el biofilm para crear más biofilm a distancia, es decir, su concentración en el agua siempre es baja, y la muestra representativa es de 100 mL.

Incubar invertidas las placas de BCSA a 30-35°C durante 48-72h.

Interpretación: Observar si aparecen colonias marrón verdosas, con halo amarillo en el medio, o bien colonias blancas con halo fucsia en el medio, o bien colonias violáceas, con o sin halo amarillento en el medio. El medio sin sembrar es rojo-salmón, su viraje completo a amarillo o a rosa-fucsia indica la presencia de gran número de colonias de CBC. Dada la versatilidad y el polimorfismo del CBC, identificar cualquier colonia crecida en el medio selectivo, aunque no sea típica, con M-Ident-CBC (Ref: KMT006) o mejor aún, enviar la placa con colonias sospechosas a identificación molecular (Ref: SFI004). No debe aparecer ni una sola colonia confirmativa en 1-10 g de medicamento o de cosmético enriquecido, ni en 100 ml de agua de uso farmacéutico o cosmético.

NOTA:

Algunas cepas del CBC no son capaces de crecer en presencia de la mezcla de los tres antibióticos de este medio, por lo que, lo mismo que sucede en Salmonella, deberían emplearse dos medios de aislamiento para abarcar toda la gama de cepas del CBC. Aconsejamos estriar en paralelo en placas de BCPT, medio de composición completamente diferente y cuyos antibióticos (de su suplemento selectivo) son menos restrictivos.

A diferencia del BCPT Agar, en este medio BCSA el uso sin la mezcla de antibióticos no es aconsejable, ya que se obtendrían demasiados falsos positivos.

PRESENTACIÓN:

MEDIO DESHIDRATADO 500g (Ref: DMT271) y suplemento en frasco pinchable estéril 100 ml (Ref: SMT405) c.s.p.10 litros de medio final. Conservar el suplemento en nevera a 4-8°C.

Placa 90 mm medio completo selectivo, cajas 80u, caducidad a su entrega: 3 meses si se mantienen a $15 \pm 2^{\circ}$ C, Ref: PPLM71

Plaquita 55 mm hermética (PLAQUIS ®), medio completo selectivo, cajas 45 u, caducidad a su entrega: 6 meses si se mantienen a 15 ± 2 °C, Ref: PPL971

Las placas y plaquitas preparadas de este medio no son un producto estéril, ya que no se someten a irradiación tras su preparación, para mantener intactas las propiedades de su colorante, sino que se someten a un control de esterilidad estadístico. Deben considerarse de fabricación en aséptico y aceptar que durante el transporte y almacenamiento, algún paquete podría contaminarse con microbiota ambiental.

El usuario final es el único responsable de la destrucción de los organismos que se hayan desarrollado, según la legislación medioambiental vigente. Autoclavar antes de desechar en la basura.

Medio fabricado en la UE por MICROKIT desde 2020, bajo ISO 9001, ISO 11133 y GMPs, revisado en 24-Sept-2020