

## Especificación

Medio sólido para el aislamiento selectivo del Complejo *Burkholderia cepacia* a partir de las secreciones respiratorias de pacientes con fibrosis cística y para el control de aguas, cosméticos y otras muestras.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
20 Placas 90 mm con: 21 ± 2 ml	1 caja con 2 paquetes de 10 placas, envueltas por bolsa de celofán.	3 meses	2-14 °C

## Composición

Composición (g/l):

Triptona.....	10,0000
Cloruro sódico.....	5,0000
Sacarosa.....	10,0000
Lactosa.....	10,0000
Extracto de levadura.....	1,5000
Rojo fenol.....	0,0800
Cristal violeta.....	0,0020
Gentamicina.....	0,0100
Polimixina B sulfato.....	600.000 UI
Vancomicina HCL.....	0,0025
Agar.....	15,0000

## Descripción/Técnica

### Descripción:

La colonización bacteriana crónica del tracto respiratorio superior que provoca exacerbaciones de las infecciones pulmonares es la causa principal de la morbilidad y mortalidad en los enfermos de fibrosis cística (FC). Las bacterias patógenas que normalmente se asocian a esta enfermedad son *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*, pero cada vez con mayor frecuencia se citan otras no fermentadoras de glucosa, como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y miembros del “*Burkholderia cepacia* Complex”. La primera descripción detallada de la importancia clínica de este complejo bacteriano la hicieron Isles et al., en 1984, documentando su prevalencia y definiendo el “Síndrome de *B. cepacia*”, un severo y progresivo fallo respiratorio con bacteriemia que se producía en alrededor del 20% de los enfermos de fibrosis cística infectados.

Los miembros del “complejo *Burkholderia cepacia*” presentan un desarrollo lento y pobre en los medios convencionales, y por ello suelen pasar desapercibidos o enmascarados bajo las colonias de otras bacterias de crecimiento rápido y mucoso, como *Pseudomonas*, *Staphylococcus* o *Klebsiella*, omnipresentes en las secreciones del tracto respiratorio de los enfermos de fibrosis cística.

Por otro lado, *Burkholderia cepacia* es frecuente como saprófito en aguas, ambientes húmedos y suelos. Ha sido reportada con frecuencia en agua, cosméticos, medicamentos y productos no estériles usados en hospitales, por lo que es importante controlar su ausencia en estas muestras, especialmente aquellos productos para uso por inhalación o preparaciones acuosas para uso oral, oromucoso, cutáneo o nasal.

El medio BCSA se ha preparado de acuerdo a la formulación de Henry y colaboradores (1997) que incluye lactosa y sacarosa como fuente energética y una base nutritiva de peptona y extracto de levadura. La selectividad se consigue con la adición de gentamicina, polimixina y vancomicina. Esta combinación de antibióticos se ha demostrado más efectiva que la de polimixina y bacitracina del medio de Welch et al. (1987), o la de polimixina, gentamicina y ticarcilina propuesta por Gilligan y colaboradores (1985), ya que se obtienen crecimientos más tempranos (colonias puntiformes a las 24 horas), junto con una buena recuperación del “complejo *B. cepacia*” y una gran inhibición del crecimiento de los no-fermentadores no pertenecientes al “complejo *B. cepacia*”.

### Técnica de uso recomendada:

Para la inoculación de las placas seguir los métodos estandarizados en el laboratorio de control. Inoculación por aislamiento en estría. Método de siembra en espiral, o cualquier otro método convencional descrito en las farmacopeas. La muestra de la secreción del tracto respiratorio se recoge y procesa de acuerdo a los protocolos clínicos establecidos.

Se inocula en la superficie del medio de cultivo para obtener colonias discretas y se incuba a 35 ± 2°C hasta 5 días con exámenes diarios. Normalmente los miembros del “complejo *B. cepacia*” producen colonias puntiformes a las 24 horas y a las 72 horas de incubación el 95% de las colonias desarrolladas en este medio pertenecen al “complejo *B. cepacia*”. Sin embargo, como alguna vez han crecido algunas colonias de *Flavobacterium ssp.*, de *Ralstonia ssp.*, o de *Burkholderia gladioli*, que no son del “complejo *B. cepacia*”, es recomendable que la identificación definitiva de los aislamientos se confirme con pruebas bioquímicas, genéticas o moleculares.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Rojizo

pH: 6,8 ± 0,3 a 25°C

### Control de Fertilidad

Inocular: 50-100 UFC (Productividad) /10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> UFC (Selectividad)

Según ISO 11133 & Farmacopea USP

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación 30-35 °C. Lectura 24-48 hasta 72 h

#### Microorganismo

*Burkholderia cepacia* ATCC® 25416

*Burkholderia cepacia* ATCC® 25608

*Staphylococcus aureus* ATCC® 6538, WDCM 00032

*Ps. aeruginosa* ATCC® 9027, WDCM 00026

*Burkholderia cenocepacia* ATCC® BAA-245

*Burkholderia multivorans* ATCC® BAA-247

#### Desarrollo

Bueno (≥50%) - Colonias verde-marrón con halo amarillo

Bueno (≥50%) - Colonias verde-marrón con halo amarillo

Inhibido

Inhibido

Bueno (≥50%). Colonias blancas

Bueno (≥50%) - Colonias blancas con halo rojo

### Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

## Bibliografía

- COENYE, T., P. VANDAMME, J.R.W. Govan and J.J. LiPuma. 2001. Taxonomy and identification of the *Burkholderia cepacia* Complex. J. Clin. Microbiol. 39:10:3427-3436.
- ERAM, S.M., Q.B. NEJAD, G.R. Khatami, N. NAFISSI. 2004. Detection of *Burkholderia cepacia* Complex in Patients with cystic fibrosis. Tanaffos 3:9:47-52.
- GILLIGAN, P.H., P.A. GAGE, L.M. BRADSHAW, D.V. SCHIDLOW and LV DeCicco. 1985. Isolation medium for the recovery of *Pseudomonas cepacia* from respiratory Secretions of Patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 22:5-8.
- HENRY, d.Ä., M.E. CAMPBELL, J.J. LiPuma and D.P. SPEERT. 1997. Identification of *Burkholderia cepacia* Isolates from Patients with cystic fibrosis and use of a simple new selective medium. J. Clin. 35:3:614-619 Microbiol.
- HENRY, d.Ä., M.E. CAMPBELL, C. McGimpsey, A. CLARKE, L. Louden, J.L. BURNS, M.H. ROE, P. VANDAMME and D.P. SPEERT. 1999. Comparison of isolation media for recovery from *Burkholderia cepacia* Complex Respiratory Secretions of Patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 37:4:1004-1007
- ISLES, A., I. MACLUSKY, M. COREY, R. GOLD, C. Prober, P. FLEMING, and H. LEVISON. 1984. *Pseudomonas cepacia* in cystic fibrosis Infection: An Emerging problem. J. Pediatr. 104:206-210.
- MILLER, JJ, 1996.A guide to Specimen Management in Clinical Microbiology. ASM Press., Washington D.C.
- WELCH, DF, M.J. Muszynski, C.H: PAI, M.J. MARCON, M.M. Hribar, P.H. Gilligan, J.M. Matsen, P.G. Ahlin, B.C. Hilman and SA CHARTRAND. 1987. Selective and differential medium for recovery from the *Pseudomonas cepacia* respiratory tracts of Patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25:1730-1734.
- HILMAN and SA CHARTRAND. 1987. Selective and differential medium for recovery from the *Pseudomonas cepacia* respiratory tracts of Patients with cystic fibrosis. J. Clin. Microbiol. 25:1730-1734.
- ISO Standard 11133:2014 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage, and performance testing of culture media.
- USP 42 - NF 37 1S (2019) Chapter <60> Microbiological examination of nonsterile products: Test for *Burkholderia cepacia* complex. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.