

COLUMBIA AGAR BASE

REF B0411184

IVD

→ USO

Medio de cultivo nutritivo utilizado para el crecimiento de diversos microorganismos. Al ser suplementado con sangre permite el crecimiento de microorganismos exigentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis. También puede ser utilizado como base para la preparación de agar chocolate. Su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Farmacopeas Europea, Japonesa y de los Estados Unidos de Norteamérica (EP, JP y USP respectivamente).

FUNDAMENTO

Este medio combina las virtudes de la peptona, la tripteína, el extracto de levadura y el extracto de corazón, que favorecen el desarrollo de microorganismos exigentes y la obtención de colonias eugónicas. El almidón incrementa el desarrollo de neisserias y las reacciones de hemólisis de algunos estreptococos. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el agar es el agente solidificante.

Puede ser utilizado como medio base para ser suplementado con sangre o con antimicrobianos, lográndose así un medio mas enriquecido o selectivo de acuerdo al aditivo. Si se suplementa con sangre ovina o equina, se puede preparar "Agar Sangre" y lograr así el crecimiento y observación de las reacciones hemolíticas de los microorganismos inoculados o también se puede preparar "Agar Chocolate" el cual es un medio de cultivo adecuado para el crecimiento de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales como ser *Haemophilus* spp. y *Neisseria* spp. Para aislar microorganismos Gram positivos en forma selectiva, puede agregarse 10 mg de colistina y 15 mg de ácido nalidíxico por litro de medio de cultivo. Este medio suplementado con antibióticos es conocido como HV o CoNa y se utiliza especialmente para el aislamiento de *Gardnerella vaginalis*.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0411184: 6 frascos x 50 ml.

FÓRMULA

PEPTONA DE CARNE	5.0 g
TRIPTEINA	10.0 g
EXTRACTO DE LEVADURA	5.0 g
EXTRACTO DE CORAZÓN	3.0 g
ALMIDÓN	1.0 g
CLORURO DE SODIO	5.0 g
AGAR	15.0 g
AGUA PURIFICADA	1000 ml

pH FINAL: 7.3±0.2

INSTRUCCIONES

Colocar los frascos cerrados en baño maría y llevar a ebullición para fundir el medio de cultivo sólido contenido en los mismos. Una vez que se ha fundido el medio de cultivo, retirar cuidadosamente los frascos del baño maría y dejar enfriar.

Cuando alcanzan temperatura 45-50 °C, abrirlos y distribuir aproximadamente 15 ml en placas de Petri estériles.

Preparación de Agar Sangre: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (REF Britasheep) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C.

Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

Preparación de Agar Chocolate: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (REF Britasheep) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C.

Calentar a 80 °C durante 10 minutos mezclando frecuentemente.

Dejar enfriar a 45-50 °C y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo color ámbar claro.

En caso de ser suplementado con sangre ovina: color rojo cereza.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo listo para usar en frascos a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra: Ensuperficie, estriar directamente el material en estudio.

Incubación: El tiempo, la temperatura, y la atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera recuperar.

En general se recomienda:

Bacterias de fácil crecimiento: en aerobiosis, a 33-37° C durante 18 a 24 horas.

Bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales: en atmósfera con 5 % de CO₂, a 33-37 °C durante 24-48 horas.

Bacterias anaerobias: en anaerobiosis, a 33-37 ° C durante 24-48 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar las características de las colonias.

Para el medio de cultivo conteniendo sangre, observar las reacciones de hemólisis:

Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos. Se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio. Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos.

Hemólisis beta: lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un

halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.
Hemólisis gamma: ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio.

CONTROL DE CALIDAD

Columbia Agar Base	
MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Satisfactorio
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Satisfactorio
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Satisfactorio
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Satisfactorio

Columbia Agar Base suplementado con 5% de sangre ovina.

MICROORGANISMOS	HEMÓLISIS	CRECIMIENTO
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Beta	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Alfa	Satisfactorio
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 49619	Alfa	Satisfactorio

CONTROL DE ESTERILIDAD RESULTADO

Medio sin inocular	Sin cambios
--------------------	-------------

LIMITACIONES

- Las reacciones hemolíticas de una amplia variedad de microorganismos son diferentes al usar sangre equina respecto al utilizar sangre de carnero, tal es el caso de algunas cepas de estreptococos grupo D, que producen beta hemólisis en el agar suplementado con sangre equina pero no en el agar suplementado con sangre de carnero, y son mal clasificadas como Estreptococos Grupo A al usar sangre equina.
- La atmósfera de incubación puede influenciar en el tipo de reacción de hemólisis en los estreptococos beta hemolíticos. Para obtener el mejor rendimiento, incubar las placas en atmósfera con CO₂ o en anaerobiosis.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes, barbijo, anteojos o máscara y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- Ellner, P.D., Stossel, C.I., Drakeford, E., and Vasi F. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.*, 45:502.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Murray P.R., Baron, Pfaller, Tenover and Tenover. 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- United States Pharmacopeia (USP 31),. 2008. (61) Microbiological Examination of Nonsterile products: Microbial Enumeration Tests. Harmonized Method.
- United States Pharmacopeia (USP 31). 2008. (62) Microbiological Examination of Nonsterile products: Tests for Specified Microorganisms. Harmonized Method.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
 Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

AUTORIZACIÓN ANMAT

Código: B0411184
 PM 1292-24
 Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

SÍMBOLOS UTILIZADOS

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO N°	 LOTE N°	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA