



BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate)

USO PREVISTO

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate) (medio de orientación BD CHROMagar / agar Columbia CNA [biplaca]) se utiliza para el aislamiento de bacterias comúnmente presentes en infecciones de las vías urinarias. Mientras que **CHROMagar Orientation Medium** es un medio no selectivo para el aislamiento, la identificación o la diferenciación de patógenos urinarios, Columbia CNA Agar es un medio selectivo para el aislamiento de bacterias gram positivas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

CHROMagar Orientation Medium: *Escherichia coli*, los enterococos, los grupos *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* y *Proteus-Morganella-Providencia* son los organismos que producen con más frecuencia infecciones en las vías urinarias. Entre un 60 y un 70% de las infecciones urinarias son causadas por *E. coli* en cultivo puro o junto con enterococos. Aunque con menor frecuencia, *Staphylococcus saprophyticus* y *Streptococcus agalactiae* también se encuentran en las enfermedades urinarias femeninas.

Algunos de los organismos involucrados producen enzimas para el metabolismo de lactosa o glucósidos o ambos, mientras que otros no producen ninguna de dichas enzimas. Por ejemplo, *E. coli* produce enzimas del metabolismo de la lactosa, pero presenta resultado negativo a la β -glucosidasa. Otros miembros de la familia *Enterobacteriaceae* tienen resultado positivo a la β -glucosidasa, pero no contienen las enzimas necesarias para la fermentación de la lactosa, mientras que otros pueden contener ambos tipos de enzimas o ninguna de ellas. Las β -glucosidasas también se encuentran en los cocos gram positivos tales como *Enterococcus* spp. y *Streptococcus agalactiae*. El triptófano desaminasa (TDA) es una enzima característica del grupo de organismos *Proteus-Morganella-Providencia*.

CHROMagar Orientation Medium permite la identificación de *E. coli*, los enterococos y la mayoría de las cepas de *Staphylococcus saprophyticus* y *S. simulans* directamente sobre la placa de aislamiento. Además, la detección de los grupos *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* (=KES) y *Proteus-Morganella-Providencia* (=PMP) es posible gracias a la coloración de las colonias y el medio¹⁻³. Dado que **CHROMagar Orientation Medium** no es selectivo, crecen otros patógenos urinarios, pero se requieren pruebas bioquímicas para su identificación.

CHROMagar Orientation Medium fue desarrollado por A. Rambach y lo suministra BD Diagnostic Systems bajo acuerdo de licencia con CHROMagar, París, Francia.

En **CHROMagar Orientation Medium**, peptonas seleccionadas especialmente suministran los nutrientes. La mezcla de cromógenos está formada por sustratos artificiales (cromógenos) que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas microbianas específicas, por lo que se asegura la diferenciación directa de determinadas especies o la detección de ciertos grupos de organismos, con sólo un mínimo de pruebas de confirmación.

Agar Columbia CNA: Ellner et al. describieron el desarrollo de una fórmula de agar sangre que se ha designado como agar Columbia⁴. Este medio, que permite obtener colonias más grandes y un crecimiento más profuso que las bases de agar sangre comparables, se utiliza en los medios que contienen sangre así como en formulaciones selectivas. Ellner et al descubrieron que un medio que contiene 10 mg de colistina y 15 mg de ácido nalidíxico por litro en una base de agar Columbia, enriquecido con sangre de carnero al 5%, favorece el crecimiento de estafilococos, estreptococos hemolíticos y enterococos, al tiempo que inhibe el crecimiento de especies de *Proteus*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*⁴.

El agar Columbia proporciona un medio con una base altamente nutritiva. La adición de los agentes antimicrobianos, colistina y ácido nalidíxico hace que este medio sea selectivo para los

microorganismos gram positivos, especialmente estreptococos y estafilococos. Se añade sangre de carnero al medio para permitir la detección de reacciones hemolíticas^{4,5}.

REACTIVOS

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate)

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

CHROMagar Orientation Medium	
Cromopeptonas	16,1 g
Mezcla cromógena	1,3
Agar	15,0

pH 6,9 ± 0,2

Agar Columbia CNA			
Digerido pancreático de caseína	12,0 g	Cloruro sódico	5,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0	Agar	13,5
Extracto de levadura	3,0	Colistina	0,01
Extracto de carne bovina	3,0	Acido nalidíxico	0,015
Almidón de maíz	1,0	Sangre de carnero, desfibrinada	5%

pH 7,3 ± 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional. 

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas **en un lugar oscuro** a una temperatura de 2 a 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades almacenadas en un lugar limpio a una temperatura de 2 a 8 °C pueden utilizarse durante una semana. **Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella, dado que la luz puede destruir los cromógenos incluidos en CHROMagar Orientation Medium.**

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas en condiciones aerobias a una temperatura entre 35 y 37 °C, por un período de no menos de 20 a 24 h.

Cepas de prueba	CHROMagar Orientation Medium	Agar Columbia CNA
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crecimiento de bueno a excelente; colonias pequeñas, de color entre azul verdoso y azul	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color gris; ausencia de hemólisis
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Crecimiento de regular a bueno; colonias diminutas de color azul	Crecimiento de regular a excelente; colonias de color de blanco a gris; beta-hemólisis
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color blanco a amarillento	Crecimiento entre bueno y excelente, colonias blancuzcas, beta-hemólisis
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento de regular a excelente; colonias de tamaño mediano, transparente y de color rosa	Inhibición completa
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 27736	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de tamaño mediano, de color azul intenso, con o sin halo azul	Inhibición de parcial a completa

<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 8427	Crecimiento de regular a excelente; colonias azul verdosas; el medio circundante es de color de ámbar a marrón	Inhibición de parcial a completa
Sin inocular	De incoloro a ámbar muy claro, transparente (puede contener hasta una cantidad moderada de pequeñas partículas)	Rojo (de color sangre)

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (biplacas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Material no suministrado

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar se utiliza exclusivamente para el aislamiento, el recuento y la diferenciación de bacterias en la orina. Se puede utilizar la orina de la parte media de la micción, de la sonda o recogida mediante punción vesical suprapúbica (ver también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Emplear técnicas asépticas al recoger las muestras urinarias. Es preciso extender la orina directamente en el medio (no más tarde de las 2 horas siguientes a la recogida de la muestra) o bien refrigerarla (menos de 24 horas) para evitar el crecimiento excesivo de los agentes infecciosos o contaminantes previamente a la inoculación de este medio⁶⁻⁸.

Procedimiento de análisis

Recoger con un asa calibrada (0,01 o 0,001 mL) una muestra de orina no diluida, adecuadamente mezclada. Para la inoculación de medios en biplacas, se prefiere utilizar asas de 0,001 mL (= 1 µL). Confirmar la obtención de una cantidad de muestra adecuada en el asa. En primer lugar, inocular la muestra en una zona pequeña de la superficie del **CHROMagar Orientation Medium** para luego inocular el resto del medio. Después, recoger una nueva muestra de la orina y aplicar el mismo método que con el **Columbia CNA Agar**. Si se utilizan asas de 10 µL, se recomienda una dilución previa de 1:10 de la orina en solución fisiológica estéril de la muestra de orina. Incubar las placas inoculadas en posición invertida a 35 – 37 °C en atmósfera aerobia durante 20 – 24 h. No se recomienda incubar esta biplaca en una atmósfera enriquecida con dióxido de carbono. **Minimizar la exposición a la luz durante la incubación, ya que se podrían destruir los cromógenos incluidos en CHROMagar Orientation Medium.** Una vez que los colores de las colonias se hayan desarrollado, se pueden exponer a la luz.

El uso de asas calibradas u otras técnicas comúnmente utilizadas para la colocación en placa de las muestras de orina es una condición obligatoria para obtener colonias aisladas con sus colores y formas características.

Resultados

Después de la incubación, las placas deben mostrar colonias aisladas en las zonas en las que el inóculo se diluyó apropiadamente. **El esquema 1** debe utilizarse para la identificación o diferenciación y como guía para las reacciones de confirmación adicional en **CHROMagar Orientation Medium**. Se pueden utilizar una tinción de Gram y microscopia para confirmar los resultados.

En Columbia CNA Agar, se producirá crecimiento en presencia de bacterias gram positivas. Consultar las referencias para conocer los detalles y la interpretación del crecimiento en este medio^{5,9}.

Pruebas de confirmación

Para **CHROMagar Orientation Medium**, realizar las pruebas de confirmación según se requiera (**Esquema 1**). No aplicar reactivos de detección, tales como indol DMACA ni otros reactivos

directamente en las colonias en este medio. Realizar las pruebas sobre papel de filtro con crecimiento de las colonias respectivas.

No utilizar el reactivo de indol Kovac para colonias de *E. coli*, ya que su color podría interferir con el color rojo de una prueba de indol positiva; utilizar el reactivo de indol dimetilaminocinamaldehído (DMACA).

Si se utilizan otras pruebas de confirmación o sistemas de identificación bioquímica, es necesario seguir las instrucciones que acompañan a dichas pruebas o sistemas.

Recuento e interpretación de los resultados⁶⁻⁹

Contar el número de colonias (UFC) en cada uno de los medios. Si se utilizó un asa de 0,001 mL, cada colonia corresponde a 1000 UFC/mL de orina⁷.

Orina de la parte media de la micción y de sonda: Las directrices actuales indican que, para un único aislado, una densidad de $\geq 10^5$ UFC/mL indica infección, $< 10^5$ UFC/mL indica contaminación uretral o vaginal, en tanto que se deben evaluar nuevamente las densidades entre 10^4 y 10^5 UFC/mL basándose en la información clínica.

Las bacterias contaminantes generalmente aparecen en escasas cantidades, que varían según la morfología colonial.

Orina recogida mediante punción vesical suprapúbica: Dado que la vejiga es estéril en los individuos no infectados, toda detección de UFC indica una infección.

Los patógenos urinarios por lo general presentan altos recuentos, morfología de colonia uniforme y color en dicho medio.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate) se utiliza para el aislamiento, la identificación o la identificación presuntiva de bacterias comúnmente presentes en infecciones de las vías urinarias.

CHROMagar Orientation Medium es un medio cromógeno para la identificación directa, la diferenciación y el recuento de patógenos urinarios comunes. El medio es adecuado para aislar en las muestras de orina numerosos microorganismos de crecimiento aerobio, tales como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros bacilos gram negativos no fermentantes, enterococos, estafilococos y muchos más¹⁻³.

Permite la identificación directa de *Escherichia coli* por el color de las colonias y una prueba de confirmación de indol, además de la identificación directa de *Enterococcus* y *Streptococcus agalactiae* por el color de las colonias y una prueba de confirmación de PYR, o también, una prueba de aglutinación serológica para la determinación del grupo Lancefield. Otros organismos pueden identificarse después de realizar algunas pruebas de confirmación o bien pueden requerir una identificación bioquímica completa, según las especies. Dado que la mayoría de las infecciones urinarias comunes son causadas por *E. coli* y/o enterococos, el uso de este medio reduce significativamente la carga de trabajo y el tiempo de inoculación y lectura de los sistemas de identificación, tareas necesarias cuando se utilizan medios convencionales.

Columbia CNA Agar es un medio estándar para el aislamiento y cultivo de muchos microorganismos gram positivos de crecimiento aerobio: por ejemplo, estreptococos, estafilococos, corineformes, las especies de *Listeria* y otros^{5,7,9}.

Resultados de rendimiento^{2,10}

Se realizaron dos evaluaciones de rendimiento independientes en **CHROMagar Orientation Medium**. En ambas evaluaciones, el medio cromógeno detectó más patógenos que los medios tradicionales utilizados como comparación. Se han publicado los detalles de la primera evaluación, y los resultados de la primera y la segunda evaluaciones están disponibles en el documento **Instrucciones de uso del BD CHROMagar Orientation Medium** (nº de cat. 254102)².

Limitaciones del procedimiento

CHROMagar Orientation Medium: Las colonias que muestran su color natural y no reaccionan con los sustratos cromógenos deben someterse a diferenciación adicional mediante pruebas bioquímicas o serológicas apropiadas. Consultar las referencias^{9,11}.

Los bacilos gram negativos diferentes de los pertenecientes al grupo KES pueden producir colonias grandes de color azul y, por tanto, requerir pruebas bioquímicas adicionales para su identificación¹¹.

En casos muy poco frecuentes, *Listeria monocytogenes* u otras especies de *Listeria* podrían estar presentes en la orina (por ej., después de un aborto debido a dichos reactivos). *Listeria* produce colonias pequeñas de color azul a azul verdoso con resultado negativo a la prueba PYR, que la asemeja a *Streptococcus agalactiae* (véase el esquema 1). Por tanto, puede ser útil preparar una tinción de Gram de todas las cepas que produzcan colonias pequeñas de color azul a azul verdoso en este medio y que tengan resultado negativo a la prueba PYR. La presencia de bacilos gram positivos puede indicar la presencia de especies de *Listeria*. Se requieren pruebas bioquímicas adicionales para confirmar la presencia de estos agentes. En raras ocasiones, los aislados de *Aeromonas hydrophila* pueden producir colonias de rosadas a rosas. Se pueden diferenciar de *E. coli* mediante una prueba de oxidasa (*Aeromonas* = positivo; *E. coli* = negativo). De vez en cuando, los estafilococos negativos a la coagulasa y diferentes de *S. saprophyticus*, por ej. *S. simulans*, *S. xylosus* y *S. intermedius* pueden presentar colonias de color de rosado a rosa. Por tanto, es necesario realizar pruebas adicionales (véase el esquema 1) en estos aislados.

CHROMagar Orientation Medium no favorece el crecimiento de organismos exigentes tales como *Neisseria*, *Haemophilus* o *Mycoplasma* spp.

No se ha validado el uso de este medio para muestras clínicas o no clínicas diferentes de la orina.

Antes de utilizar **BD CHROMagar Orientation Medium** por primera vez, se recomienda practicar con el aspecto de colonia característico de cepas definidas, por ejemplo, las cepas mencionadas en **CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO**.

Agar Columbia CNA: En este medio pueden crecer bacterias que exhiben resistencia a los ingredientes selectivos.

Este medio no inhibe las especies de *Candida* ni otros hongos.

Aunque se trata de bacterias gram positivas, en el Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood se pueden inhibir los microorganismos aerobios formadores de esporas, por ejemplo, las especies de *Bacillus*.

Ciertas pruebas diagnósticas pueden efectuarse directamente en este medio; no obstante, para lograr la identificación completa se necesitan pruebas bioquímicas, y (si así se indica), pruebas inmunológicas usando cultivos puros.

La base de agar Columbia posee un contenido relativamente elevado de carbohidratos y, por tanto, los estreptococos beta-hemolíticos pueden producir una reacción hemolítica verdosa que se podría tomar erróneamente por alfa-hemólisis.

REFERENCIAS

1. Merlino, J., S. Siarakas, G. J. Robertson, G. R. Funnell, T. Gottlieb, and R. Bradbury. 1996. Evaluation of CHROMagar Orientation for differentiation and presumptive identification of gram-negative bacilli and *Enterococcus* species. *J. Clin. Microbiol.* 34: 1788-1793.
2. Hengstler, K.A., R. Hammann, and A.-M. Fahr. 1997. Evaluation of BBL CHROMagar Orientation medium for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. *J. Clin. Microbiol.* 35: 2773-2777.
3. Samra, Z., M. Heifetz, J. Talmor, E. Bain, and J. Bahar. 1998. Evaluation of use of a new chromogenic agar in detection of urinary tract pathogens. *J. Clin. Microbiol.* 36: 990-994.
4. Ellner, P.D., C.J. Stoessel, E. Drakeford, and F. Vasi. 1966. A new culture medium for medical bacteriology. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:502-504.
5. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
6. Barry, A.L., P.B. Smith, and M. Turck. 1975. Cumitech 2, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., T.L. Gavan. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., and P.A. Granato. Processing specimens for bacteria. 1995. In: Murray, P. R., E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

8. Clarridge, J.E., M.T. Pezzlo, and K.L. Vosti. 1987. Cumitech 2A, Laboratory diagnosis of urinary tract infections. Coordinating ed., A.S. Weissfeld. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Isenberg, H. D. (ed.). 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, Clinical microbiology procedures handbook, vol.1, p. 1.6.1-1.6.7. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Data on file. BD Diagnostic Systems Europe, Heidelberg, Germany.
11. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8thed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD CHROMagar Orientation Medium / Columbia CNA Agar (Biplate)

REF	254489	Medios en placa listos para usar, 20 placas
REF	257727	Medios en placa listos para usar, 120 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



Becton Dickinson GmbH

Tullastrasse 8 – 12

69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@bd.com

<http://www.bd.com>

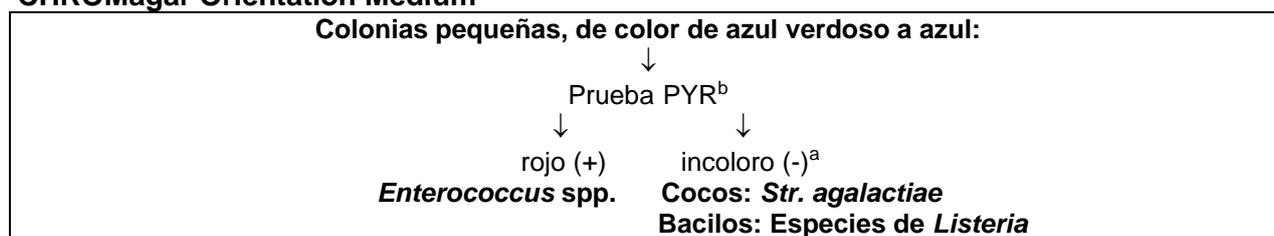
<http://www.bd.com/europe/regulatory/>

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach

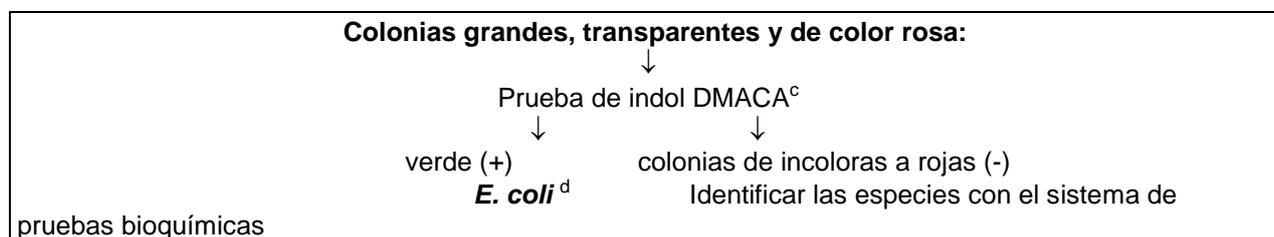
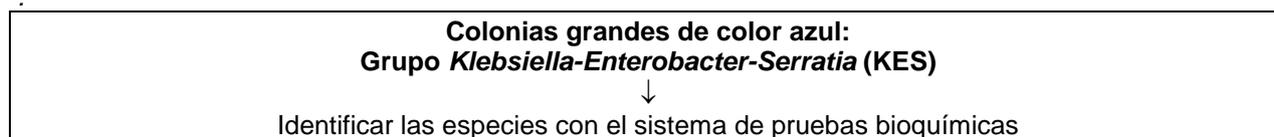
ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

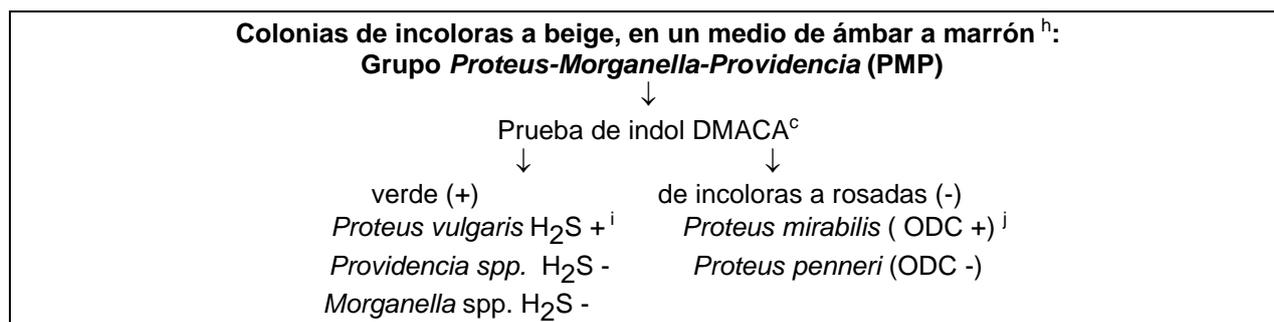
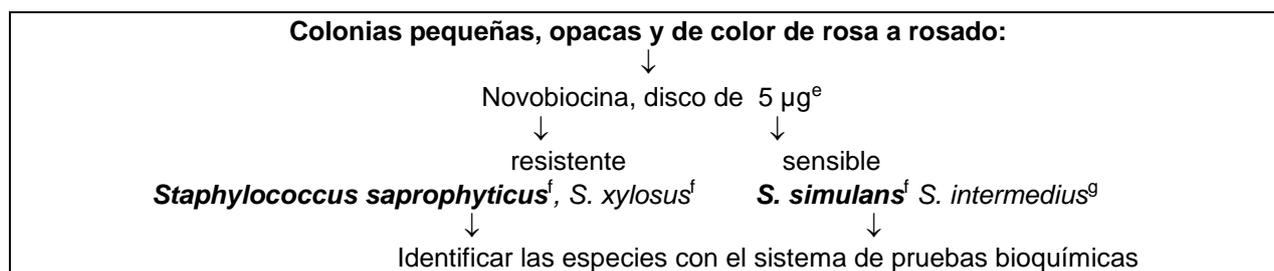
© 2019 BD. BD, the BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company.

Esquema 1: Directrices para el aspecto de las colonias, para el rendimiento de las pruebas de confirmación y la diferenciación o identificación resultante en BD CHROMagar Orientation Medium



:





^a Se recomienda tinción de Gram.

^b Prueba de piroglutamato para pirrolidonil arilamidasa. Pueden utilizarse pruebas serológicas para la determinación de grupo Lancefield en lugar de una prueba PYR para la diferenciación de *Enterococcus* spp. de *Streptococcus agalactiae*.

^c DMACA= reactivo de dimetilaminocinamaldehído para determinar la producción de indol. Aplicar el reactivo sobre papel de filtro y frotar una colonia en la zona con reactivo sobre dicho papel de filtro. Esperar durante 10 – 20 seg. Un color **verde** indica producción de indol (color rojo o incoloro = negativo). ¡No utilizar el reactivo de indol Kovac para analizar las colonias rosas!

^d Una prueba de oxidasa puede realizarse en todas las colonias positivas a indol, grandes y de color rosa para excluir *Aeromonas* (=positivas a la oxidasa).

^e Inocular mediante extensión del aislado sobre una placa de agar Mueller Hinton II. Colocar un disco de novobiocina de 5 µg en la placa inoculada. Incubar durante 18 – 24 h a 35 – 37 °C y medir el tamaño de la zona de inhibición (resistente: ≤ 16 mm, sensible: > 16 mm).

^f Conocidos como patógenos humanos, también pueden aislarse de la orina.

^g No conocidos como aislados de orina humana.

^h El color de ámbar a marrón se debe al resultado positivo a triptófano desaminasa (TDA), común a todos los organismos del grupo PMP. Alrededor del 50% de las cepas de *P. vulgaris* produce colonias de color azul en un medio de ámbar a marrón

ⁱ Prueba convencional de ácido sulfhídrico.

^j Prueba convencional de ornitina descarboxilasa.