BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

USO PREVISTO

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate) (agar MacConkey II BD / agar Columbia CNA mejorado II con sangre de carnero al 5% [biplaca]) es un medio mejorado para el aislamiento selectivo de bacterias gram negativas y gram positivas a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.
El agar MacConkey es una de las primeras fórmulas (publicadas en 1900 por MacConkey) para el aislamiento, cultivo e identificación de *Enterobacteriaceae* y determinados organismos no fermentadores. Posteriormente, este medio fue modificado varias veces[1,2].
La fórmula del agar MacConkey II se diseñó en 1987 para mejorar la inhibición de la proliferación de la especie *Proteus*, lograr una diferenciación más definitiva de los organismos fermentadores y no fermentadores de lactosa y alcanzar un crecimiento superior de las bacterias entéricas. En MacConkey II Agar, las peptonas proporcionan los nutrientes. El cristal violeta inhibe las bacterias gram positivas, en especial los enterococos y estafilococos. La diferenciación de los microorganismos entéricos se logra mediante la combinación de lactosa y el indicador de pH rojo neutro. Se producen colonias incoloras o de color de rosa a rojo según la capacidad del aislado para fermentar los carbohidratos[3-5].

En 1966 Ellner et al. describieron el desarrollo de una fórmula de agar sangre que se ha designado como agar Columbia[6]. Este medio, que permite obtener colonias más grandes y un crecimiento más profuso que las bases de agar sangre comparables, se utiliza en aquellos 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*[6]. Con los años, ha aumentado la resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos. Esto se aplica especialmente a los bacilos gram negativos que deberían presentar inhibición pero que a menudo producen crecimiento en un Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. En el Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood se ha incluido una pequeña cantidad de aztreonam para preservar una buena selectividad de este medio y se ha reducido la concentración de ácido nalidíxico a 5,5 mg/L para incrementar la recuperación de los cocos gram positivos, en especial estafilococos. La concentración de colistina no sufrió ninguna modificación. El aztreonam es un monobactámico con actividad solo contra la mayoría de las bacterias gram negativas y que no afecta a los organismos gram positivos[7-9].
La sangre de carnero permite detectar las reacciones hemolíticas, que son especialmente importantes en el diagnóstico presuntivo de estreptococo[10].
La principal ventaja de Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood con respecto a Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood es el crecimiento mejorado de estafilococos, que se detectan con mayor frecuencia después de 18-24 horas de incubación, y la mejor inhibición de bacterias gram negativas resistentes, en especial las especies de *Proteus*.

La combinación de estos dos medios en una biplaca (**BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood**) se utiliza para el aislamiento selectivo de bacterias gram negativas y gram positivas a partir de muestras clínicas.

REACTIVOS

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

Fórmulas* por litro de agua purificada

MacConkey II Agar		Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood	
Digerido pancreático de gelatina	17,0 g	Peptonas	20,0 g
Digerido pancreático de caseína	1,5	Extracto de levadura	3,5
Digerido péptico de tejido animal	1,5	Digerido tríptico de corazón de res	3,0
Lactosa	10,0	Almidón de maíz	1,0
Sales biliares	1,5	Cloruro sódico	5,0
Cloruro sódico	5,0	Colistina	10,0 mg
Rojo neutro	0,03	Acido nalidíxico	5,5
Cristal violeta	0,001	Aztreonam	3,0
Agar	13,5	Sangre de carnero, desfibrinada	5%
pH 7,1 ± 0,2		pH 7,3 ± 0,2	

*Ajustada y/o complementada 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 ÚTIL

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 área limpia a una temperatura de 2 a 8 °C pueden utilizarse durante una semana.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener más datos, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas, preferiblemente en posición invertida a temperatura de 35 a 37 °C en atmósfera aerobia durante un plazo de 18 a 24 horas.

Cepas	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
Escherichia coli ATCC 25922	Crecimiento de bueno a excelente, colonias de color rosa a rojo con precipitados biliares	Inhibición completa
Proteus mirabilis ATCC 12453	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color de beige a amarronado, inhibición de la proliferación	Inhibición completa
Enterococcus faecalis ATCC 29212	Inhibición (de parcial a) completa	Crecimiento de bueno a excelente, colonias pequeñas de color gris
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibición completa	Colonias de color de blanco a amarillento, con beta-hemólisis
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Sin analizar	Colonias pequeñas grisáceas; beta-hemólisis
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Sin analizar	Colonias pequeñas de color de verde a gris; alfa-hemólisis
Sin inocular	Rosa claro, ligeramente opalescente	Rojas, opacas

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (biplacas **Stacker** de 90 mm). Con control microbiológico.

Materiales no suministrados

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

Tipos de muestras

Los medios contenidos en esta biplaca se utilizan para el aislamiento selectivo de varias bacterias gram negativas y gram positivas a partir de todos los tipos de muestras clínicas (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

Extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta.
Para inocular esta biplaca con muestras de torundas, primero hacer girar la torunda sobre una superficie pequeña del Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood, para luego proceder a extender sobre una pequeña superficie de agar MacConkey II. Con un asa nueva para cada uno de los medios, extender la muestra para aislamiento a partir de las áreas inoculadas. Incubar en aire ambiente durante 24 a 48 horas a temperatura de 35 a 37 °C. No se recomienda incubar este producto en una atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono, porque los resultados del agar MacConkey pueden diferir con respecto a los obtenidos con incubación en aire ambiente[11].

Dado que existen organismos gram positivos y gram negativos que son inhibidos en ambos medios en esta biplaca o que no crecen en el aire ambiente, es necesario incluir una placa de agar sangre no selectivo, por ejemplo, **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** que se incuba durante 24 a 48 horas a temperatura de 35 a 37 °C en una atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono.

Resultados

Los resultados característicos de crecimiento en **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** son los siguientes:

Organismos	MacConkey II Agar	Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood
E. coli	De color de rosa a rojo rosáceo (pueden estar rodeadas de una zona con precipitación de bilis)	Inhibición (de parcial a) completa
Enterobacter	Mucoides, de color rosa	Inhibición (de parcial a) completa
Klebsiella	Mucoides, de color rosa	Inhibición (de parcial a) completa
Proteus	Incolora, inhibición de la proliferación	Inhibición (de parcial a) completa; inhibición de la proliferación
Salmonella	Incolora	Inhibición completa
Shigella	Incolora	Inhibición completa
Pseudomonas	Irregulares, de incolora a color rosa	Inhibición (de parcial a) completa
Estafilococos	Inhibición de parcial a completa	Crecimiento; colonias de blancas a amarillas, de pequeñas a medianas, con o sin beta-hemólisis
Estreptococos	Inhibición completa	Crecimiento; colonias de minúsculas a medianas, con o sin beta o alfa-hemólisis
Enterococos	Inhibición de parcial a completa	Crecimiento; colonias de minúsculas a medianas; posiblemente con bordes grisáceos, por lo general no hemolíticas

También pueden crecer en estos medios otras bacterias gram negativas y gram positivas, no incluidas en la lista anterior. Consultar las referencias para conocer los detalles y la interpretación del crecimiento[4,10,12].

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD MacConkey II Agar es uno de los medios estándar utilizados para el tratamiento primario en placas de las muestras clínicas y para diversos materiales no clínicos. En este medio crecerán microorganismos de la familia *Enterobacteriaceae* y una diversidad de otros bacilos gram negativos, p. ej. *Pseudomonas* y géneros relacionados. Los organismos no fermentadores y otros bacilos gram negativos sensibles a los componentes selectivos no crecen en este medio. Consultar los capítulos correspondientes en las referencias antes de utilizar el medio para organismos específicos[4,10,12].

BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood es un medio selectivo mejorado para el aislamiento y cultivo de muchos microorganismos gram positivos de crecimiento aerobio de muestras clínicas; por ejemplo, estreptococos, estafilococos, las especies de *Listeria* y otros. El medio permite una detección más rápida de estafilococos, estreptococos y enterococos y una mejor inhibición de las bacterias gram negativas que Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood.

En evaluaciones de rendimiento internas, se analizaron más de 38 cepas de prueba (aislados clínicos y cepas recogidas) de bacterias gram positivas que pertenecían a las especies mencionadas en la Tabla 1 y muchas baterias gram negativas para detectar crecimiento utilizando **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate). BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (=COL) se utilizó como medio de referencia de crecimiento. Las placas se incubaron en una atmósfera aerobia durante 18 a 24 horas a temperatura de 35 a 37 °C.
Las cepas de *Proteus* resistentes a la quinolona quedaron completamente inhibidas en Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood pero experimentaron un crecimiento denso en MacConkey II Agar y Columbia Agar.
El tamaño de las colonias y las zonas hemolíticas de Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood eran comparables a los de Columbia Agar. Todas las cepas positivas a excepción de *Corynebacterium diphtheriae* produjeron crecimiento en Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood en un plazo de 18 a 20 horas de incubación aerobia y se inhibieron completamente en MacConkey II Agar. La *C. diphtheriae* requirió 42 horas de incubación. El análisis incluyó estafilococos para los que fueron necesarios 2 días de incubación en Columbia CNA Agar normal.

Tabla 1: Especies gram positivas analizadas y recuperadas en BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (incubación aerobia)

*Corynebacterium diphtheriae**	*Staphylococcus hyicus*	*Streptococcus sanguis*
Enterococcus faecalis	*Staphylococcus saprophyticus*	*Streptococcus* grupo C
Enterococcus faecium	*Staphylococcus schleiferi*	*Streptococcus* grupo G
Enterococcus durans	*Staphylococcus xylosus*	
Enterococcus hirae	*Staphylococcus warneri*	
Listeria monocytogenes	*Streptococcus agalactiae*	
Staphylococcus aureus	*Streptococcus bovis*	
Staphylococcus capitis	*Streptococcus mitis*	
Staphylococcus cohnii	*Streptococcus pneumoniae*	
Staphylococcus epidermidis	*Streptococcus pyogenes*	

* Se necesitaron 48 horas de incubación para detección en **CNA-II** y **CNA.**

Limitaciones: En este medio pueden crecer bacterias gram negativas 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, se pueden inhibir los microorganismos aerobios formadores de esporas, como las especies de *Bacillus*, en el Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.
Las corinebacterias pueden requerir de 42 a 48 horas de incubación en el Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.
Algunos estreptococos, como *Streptococcus intermedius* y *Streptococcus milleri,* necesitan una atmósfera anaerobia o aerobia enriquecida con CO_2 para el crecimiento.
La base de agar Columbia posee un contenido relativamente elevado de carbohidratos. Por tanto, los estreptococos beta-hemolíticos pueden producir una reacción hemolítica verdosa que se podría tomar erróneamente por alfa-hemólisis en Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood.

Aunque una gran variedad de bacterias gram positivas y gram negativas crecen en uno de los medios contenidos en **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)**, se recomienda incluir un medio no selectivo para el aislamiento primario de todos los patógenos que pueden estar presentes en una muestra[10.] **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** se utiliza con frecuencia como medio en placa primario no selectivo con dicho propósito. Para el aislamiento de organismos exigentes, tales como *Neisseria* o *Haemophilus*, la muestra también debe inocularse en una placa de agar chocolate, como **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** si se prevé la presencia de estos organismos.

Se ha descrito la inhibición de algunas *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas aeruginosa* en agar MacConkey cuando se incuban en una atmósfera enriquecida con CO_2[11.] Por lo tanto, **BD MacConkey II Agar / Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)** no se debe incubar en una atmósfera enriquecida con CO_2.

En algunas placas con un crecimiento denso de estafilococos en el medio Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood y sin crecimiento en MacConkey II Agar, se ha observado que el color del medio MacConkey II Agar pierde intensidad. Esto no tiene ningún efecto negativo con respecto a la recuperación y la coloración de colonia característico de las bacterias gram negativas en MacConkey II Agar.

Aunque ciertas pruebas diagnósticas pueden efectuarse directamente en este medio, se requieren pruebas bioquímicas y, si así se indica, pruebas inmunológicas con cultivos puros para lograr la identificación completa de los aislados.

REFERENCIAS

1. Levine, M., and H.W. Schoenlein. 1930. A compilation of culture media for the cultivation of microorganisms. The Williams & Wilkins Company, Baltimore.
2. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria, vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Baron, E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc., St. Louis.
4. Farmer, J.J., III., K.D. Boatwright, and J.M. Janda 2007. *Enterobacteriaceae*: introduction and identification. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Downes, F.P., and K. Ito. 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4th edition. American Public Health Association (APHA). Washington, D.C. USA.
6. 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.
7. Wood, W., G. Harvey, E.S. Olson, and T.M. Reid. 1993. Aztreonam selective agar for Gram positive bacteria. J. Clin. Pathol. 46: 769-771.
8. Wiedemann, B., and B. A. Atkinson. 1986. Susceptibility to antibiotics: species incidence and trends. *In:* Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 962-1208. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
9. von Graevenitz, A. 1986. Use of antimicrobial agents as tools in epidemiology, identification, and selection of microorganisms. *In:* Lorian, V. (ed.), Antibiotics in Laboratory medicine, p. 723-738. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.

10. Spellerberg, B., Brandt, C. 2007. *Streptococcus*. *In:* Murray, P. R., E. J. Baron, M.L. Landry, J.H. Jorgensen, and M. A. Pfaller (ed.). Manual of clinical microbiology, 9th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Mazura-Reetz, G. T. Neblett, and J. M. Galperin. 1979. MacConkey Agar: CO2 vs. ambient incubation. Abst. Ann. Mtg. American Society for Microbiology. C179.
12. 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.

ENVASE/DISPONIBILIDAD

BD MacConkey II Agar / BD Columbia CNA Agar Improved II with 5% Sheep Blood (Biplate)

N.º de cat.	Descripción
REF. 257574	Medios en placa listos para usar, 20 placas
REF. 257584	Medios en placa listos para usar, 120 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, póngase en contacto con su representante local de BD.

Becton Dickinson GmbH
Tullastrasse 8 – 12
D-69126 Heidelberg/Germany
Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
Reception_Germany@europe.bd.com

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

ATCC es marca comercial de la American Type Culture Collection
BD, el logotipo de BD y Stacker son marcas comerciales de Becton, Dickinson and Company.
© 2015 Becton, Dickinson and Company