



## BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

### USO PREVISTO

**BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** es un medio muy nutritivo de uso general para el aislamiento y el cultivo de microorganismos exigentes y no exigentes a partir de muestras clínicas.

### PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

En 1966, Ellner et al.<sup>1</sup> describieron el desarrollo de una nueva fórmula de agar sangre, que se ha designado como agar Columbia. Las propiedades superiores del agar Columbia con sangre de caballo al 5% para propiciar el crecimiento se derivan de la combinación de dos peptonas y del extracto de levadura como fuente de vitaminas del complejo B. Se incluye almidón de maíz para absorber los derivados tóxicos contenidos en la muestra y sirve como fuente de energía para los microorganismos que poseen alfa-amilasas. La sangre de caballo permite detectar las reacciones hemolíticas y suministra el factor X (hemo) y el factor V (nicotinamida adenina dinucleótido, NAD), necesarios para el crecimiento de numerosas especies bacterianas, incluido *Haemophilus influenzae*, que requiere ambos factores, X y V. El agar sangre Columbia posee un contenido relativamente elevado de carbohidratos y, por tanto, los estreptococos beta-hemolíticos pueden producir una reacción hemolítica verdosa que se podría confundir con una alfa-hemólisis. No obstante, dicha reacción hemolítica verdosa de los estreptococos se observa con menor frecuencia en el agar Columbia suplementado con sangre de caballo que en el mismo medio suplementado con sangre de carnero<sup>2</sup>. Debe tenerse en cuenta que las reacciones beta-hemolíticas dependen del tipo de sangre añadida. Por ejemplo: los enterococos que hemolizan sangre de carnero sólo muy raramente producirán una beta-hemólisis bien visible en sangre de caballo. *Staphylococcus aureus*, que por lo general es beta-hemolítico en sangre de carnero, a menudo no será hemolítico en sangre de caballo.

En este medio, las colonias suelen ser más grandes y el crecimiento más profuso que en otros medios con diferentes bases de agar sangre. En las normas de calidad MiQ se recomienda el agar sangre Columbia como un medio de aislamiento primario<sup>3</sup>. En muchos países europeos, éste se ha convertido en el medio de aislamiento primario más frecuentemente utilizado para las muestras clínicas.

### REACTIVOS

#### BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Fórmula\* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína	12,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0
Extracto de levadura	3,5
Extracto de carne bovina	3,0
Almidón de maíz	1,0
Cloruro sódico	5,0
Agar	13,5
Sangre de caballo, 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 entre 2 y 8 °C, envueltas en su envase original, hasta justo antes de usarlas. Evitar la congelación y el calentamiento excesivo. Las placas pueden inocularse hasta su fecha de caducidad (ver la etiqueta en el paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Las placas de grupos de 10 placas ya abiertos pueden usarse durante una semana siempre que se almacenen en un lugar limpio a una temperatura entre 2 y 8 °C.

## 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 inoculadas a una temperatura de 35 ± 2 °C en una atmósfera aeróbica suplementada con dióxido de carbono. Examinar las placas después de un período entre 18 y 24 h para comprobar la extensión del crecimiento, el tamaño de las colonias y las reacciones hemolíticas.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crecimiento, beta-hemólisis
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crecimiento, alfa-hemólisis.
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crecimiento, beta-hemólisis
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento; posiblemente beta-hemolítico
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Crecimiento
Sin inocular	Rojo (de color sangre)

## PROCEDIMIENTO

### Materiales suministrados

**BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** (placas **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

Este es un medio general de aislamiento y se puede utilizar con todos los tipos de muestras bacteriológicas incubadas en condiciones aerobias (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.

Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego para hacer el aislamiento a partir de esta área inoculada. Para la detección de patógenos específicos, se deben incluir medios selectivos apropiados, p. ej. **BD MacConkey II Agar** para el aislamiento de *Enterobacteriaceae* y otros bacilos gram negativos.

Dado que muchos patógenos requieren dióxido de carbono para su aislamiento primario, las placas de **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** se deben incubar en una atmósfera aerobia con aproximadamente de 3 a 10% de CO<sub>2</sub>. Incubar las placas a una temperatura de

35 ± 2 °C durante un período de 18 a 72 h. Tomar una lectura inicialmente después de 18 a 24 horas e incubar de nuevo si es necesario.

## Resultados

Después de la incubación, la mayoría de las placas mostrarán un área de crecimiento confluyente. Dado que el procedimiento de extensión de la muestra es, de hecho, una técnica de “dilución”, se depositan cada vez menos microorganismos en las áreas en que se realiza. Por consiguiente, una o más de estas áreas presentarán colonias aisladas de los organismos que contenga la muestra. Por otra parte, el crecimiento de cada organismo podrá medirse semi-cuantitativamente basándose en el crecimiento ocurrido dentro de las áreas en donde se extienden las muestras. Consultar las referencias pertinentes con relación al aspecto y las pruebas adicionales de diferenciación de los organismos aislados<sup>2,3</sup>.

La morfología característica de las colonias de los microorganismos frecuentemente aislados en el **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood** se indica a continuación:

Estreptococos (diferentes del grupo D)	Pequeños, de color de blanco a gris. Hemólisis beta o alfa.
Enterococos (grupo D)	Colonias grisáceas pequeñas pero más grandes que las de los estreptococos del grupo A. Beta-hemólisis.
Estafilococos	Colonias grandes, de color entre blanco y grisáceo o entre crema y amarillo, con o sin hemólisis.
Corinebacterias	Colonias de pequeño a gran tamaño, de color blanco a gris o amarillo, con o sin hemólisis.
<i>Listeria monocytogenes</i>	Colonias de pequeño a mediano tamaño, grisáceas, con débil beta-hemólisis.
<i>Enterobacteriaceae</i>	Colonias de mediano a gran tamaño, de color gris, con o sin hemólisis.
<i>Candida</i> spp.	Pequeñas, de color blanco.

## CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El medio es adecuado para el aislamiento y cultivo de muchos microorganismos de crecimiento aerobio, como *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* y otros bacilos gram negativos no fermentadores, estreptococos, estafilococos, corineformes, especies de *Candida*, y muchos más<sup>2-4</sup>.

El agar Columbia suplementado con sangre de caballo proporciona una beta-hemólisis más definida de estreptococos que el agar Columbia con sangre de carnero<sup>2</sup>.

Las propiedades hemolíticas que se describen en los libros de texto de diagnóstico se refieren por lo general a la sangre de carnero. En los medios con sangre de caballo, como en **BD Columbia Agar with 5% Horse Blood**, dichas características podrían ser diferentes (véase también **PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO**).

Las colonias de *Haemophilus haemolyticus*, que forman parte de la flora faríngea normal, son beta-hemolíticas en agar sangre de caballo y sangre de conejo, y deben diferenciarse de las colonias de estreptococos beta-hemolíticos mediante otros criterios. Se ha sugerido que el uso de sangre de carnero resuelve este problema, dada su deficiencia de nucleótidos de piridina y el hecho de que no permite el crecimiento de *H. haemolyticus*<sup>5</sup>.

*Neisseria gonorrhoeae* no crece bien en este medio. En cambio, debe emplearse agar Chocolate para la recuperación de esta especie.

El medio tampoco es apropiado para el aislamiento y el crecimiento de *Mycobacterium*, *Legionella*, *Bordetella* y otros microorganismos con necesidades nutricionales altamente específicas.

Son altos el número y la variedad de especies bacterianas que se dan como agentes infecciosos. Por tanto, antes de utilizar sistemáticamente el medio para microorganismos de reciente descripción o raramente aislados, el usuario debe analizar su conveniencia mediante cultivos puros del microorganismo en cuestión.

Ciertas pruebas de diagnóstico pueden efectuarse directamente en este medio; no obstante, para lograr la identificación total es necesario efectuar pruebas bioquímicas, y (si así se indica)

pruebas inmunológicas usando cultivos puros. Consultar las referencias correspondientes para obtener más información<sup>4,5</sup>.

## REFERENCIAS

1. 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.
2. Chapin, K.C., and T.-L. Lauderdale. 2003. Reagents, stains, and media: bacteriology. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed.* American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. MiQ - Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, edited by Mauch, H., R. Lüttiken, and S. Gatermann for the Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM). Volumes 3, 6, and 7. Urban & Fischer, Munich, Germany.
4. 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.
5. Baron, E. J, L. R. Peterson, and S. M. Tenover. 1994. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 9th ed.*, p. 415. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.

## ENVASE/DISPONIBILIDAD

### BD Columbia Agar with 5% Horse Blood

Nº de cat. 256006 Medios en placa listos para usar, 20 placas

## INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a 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 is a trademark of the American Type Culture Collection

BD, BD Logo and all other trademarks are the property of Becton, Dickinson and Company. © 2013 BD