



BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

USO PREVISTO

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (Agar Columbia CNA con sangre de carnero al 5%, mejorado) es un medio selectivo que se emplea para el aislamiento de microorganismos gram-positivos en materiales clínicos y no clínicos.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico

En 1966 Ellner y col. describieron el desarrollo de una fórmula de agar sangre que se ha designado como agar Columbia¹. 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 y col. 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*¹⁻³.

Con el paso de los años ha aumentado la resistencia de las bacterias a los agentes antimicrobianos. Esto se aplica especialmente a los bacilos gram negativos que se deben inhibir (aunque a menudo suelen producir crecimiento) en Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood. Para preservar una buena selectividad de este medio, se ha incluido una pequeña cantidad de aztreonam en el BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved. El aztreonam es un monobactámico con actividad sólo contra la mayoría de las bacterias gramnegativas y que no afecta a los organismos grampositivos⁴⁻⁶. En el **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**, la concentración de ácido nalidíxico se ha reducido a 5,5 mg/L para incrementar la recuperación de los cocos grampositivos, en especial estafilococos, en las muestras clínicas.

El agar Columbia proporciona un medio con una base altamente nutritiva. La adición de los agentes antimicrobianos, colistina, ácido nalidíxico y aztreonam, hace que este medio sea selectivo para los microorganismos gram-positivos, especialmente estreptococos y estafilococos. La sangre de carnero permite detectar las reacciones hemolíticas, que son especialmente importantes en el diagnóstico presuntivo de estreptococo^{2,3, 7-9}.

REACTIVOS

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

Fórmula* por litro de agua destilada

Digerido pancreático de caseína	12,0 g	Agar	13,5 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0	Colistina	10,0 mg
Extracto de levadura	3,0	Ácido nalidíxico	5,5
Extracto de carne bovina	3,0	Aztreonam	3,0
Almidón de maíz	1,0	Sangre de carnero, desfibrinada	5%
Cloruro sódico	5,0	pH 7,3 ± 0,2	

*Ajustada o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Para uso exclusivo por parte de profesionales. Ⓢ

No usar placas que presenten señales de contaminación microbiana, decoloración, desecación, roturas u otras señales de deterioro.

Consultar en las **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO** los procedimientos de manipulación aséptica, peligros biológicos y eliminación del producto después de su 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 el medio con las cepas enumeradas a continuación. (Para conocer los detalles, ver el documento **INSTRUCCIONES GENERALES SOBRE EL USO**.) Incubar a una temperatura de 35 ± 2 °C durante un período de 18 a 24 horas, en un ambiente aerobio enriquecido con dióxido de carbono.

Cepas	Resultados del crecimiento
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Crecimiento bueno o excelente, puede ser beta-hemolítico
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	Crecimiento bueno o excelente, hemólisis alfa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Crecimiento bueno o excelente, hemólisis beta
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Crecimiento bueno o excelente
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 12453	Inhibición parcial o completa; ausencia de proliferación
Sin inocular	Rojo (color sangre)

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II (placas **Stacker** de 90 mm). Controladas microbiológicamente.

Materiales no suministrados

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

Tipos de muestras

Este es un medio selectivo universal para el aislamiento de numerosos microorganismos gram-positivos, especialmente estreptococos y estafilococos, en bacteriología aerobia que puede utilizarse en muestras bacteriológicas de todo tipo (ver también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

Una vez recibida la muestra en el laboratorio, extender tan pronto como sea posible. La placa de frotis se emplea sobre todo para aislar cultivos puros en muestras que contengan flora microbiana mixta. Si por el contrario el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, realizando luego el frotis a partir de esta área inoculada. A fin de detectar todos los patógenos contenidos en la muestra, también debe hacerse un frotis en medios no selectivos apropiados, p. ej. **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood**, así como en otros medios selectivos como **BD MacConkey II Agar**⁷⁻¹⁰.

Incubar **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** a una temperatura de 35 ± 2 °C durante 42 a 48 horas, en un ambiente aerobio enriquecido con dióxido de carbono y leer las placas al cabo de 18 a 24 horas y de 42 a 48 horas.

Resultados

La morfología característica de las colonias en el **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** es la siguiente:

Estreptococos (grupo no D)	Colonias pequeñas, color blanco o grisáceo. Hemólisis beta o alfa.
Enterococos (Grupo D)	Colonias grisáceas pequeñas pero más grandes que las de los estreptococos grupo A. Hemólisis alfa (rara vez beta).
Estafilococos	Colonias grandes, de color entre blanco y grisáceo o entre crema y amarillo, con o sin hemólisis

Corynebacteria*	Colonias de pequeño a gran tamaño, de color blanco a gris o amarillo, con o sin hemólisis
Candida spp.	Colonias pequeñas de color blanco
Listeria monocytogenes	Colonias de pequeño a mediano tamaño, grisáceas, con débil hemólisis beta
Bacterias gram-negativas	Crecimiento nulo, o sólo trazas de éste

*Véase Limitaciones del Procedimiento

También pueden crecer en este medio otras bacterias gram positivas que no se han mencionado anteriormente (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II es un medio mejorado para el aislamiento y cultivo de un gran número de microorganismos gram positivos de crecimiento aerobio, como son los estreptococos, los estafilococos, los corineformes, las especies de *Listeria* y otros. Este medio se puede comparar con Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, pero su selectividad frente a las bacterias gram negativas es mejor.

Características de rendimiento¹¹

En evaluaciones de rendimiento internas, se analizaron más de 45 cepas de prueba (aislados clínicos y cepas recogidas) de bacterias grampositivas que pertenecían a las especies mencionadas en la Tabla 1 para detectar crecimiento utilizando **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (=CNA-II) y se compararon con **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** (=CNA). **BD Columbia Agar with 5% Sheep Blood** (=COL) se utilizó como medio de referencia de crecimiento. Se incubaron las placas en una atmósfera aerobia enriquecida con CO₂ durante 18–24 horas.

Las cepas de *Proteus* resistentes a la quinolona quedaron completamente inhibidas en CNA-II pero experimentaron un crecimiento denso con CNA y COL. Además, se analizaron varios bacilos gramnegativos (*Klebsiella pneumoniae*, que son productores de betalactamasas de amplio espectro, *Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas aeruginosa*). No todas estas cepas crecieron en CNA-II, pero algunas experimentaron un crecimiento de ligero a medio en CNA, y todas experimentaron un crecimiento denso en COL.

Se inhibieron más bacterias gramnegativas en CNA-II que en CNA, mientras que el aislamiento de bacterias grampositivas fue idéntico en ambos medios selectivos o mejor en CNA-II.

Se analizaron también en CNA-II varias cepas de *Staphylococcus aureus* que habían experimentado un crecimiento débil en CNA. Todas estas cepas experimentaron un crecimiento aceptable o excelente en CNA-II. El tamaño de las colonias y las zonas hemolíticas de CNA-II eran comparables a los de COL.

Tabla 1: Especies gram positivas analizadas y recuperadas en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II** (incubación: aerobia con un porcentaje entre 5 y 8% de dióxido de carbono)

<i>Corynebacterium diphtheriae</i> *	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Streptococcus. milleri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saccharolyticus</i> **	<i>Streptococcus. mitis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus schleiferi</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Staphylococcus xylosus</i>	<i>Streptococcus sanguis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus warneri</i>	<i>Streptococcus group C</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus group F</i>
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Streptococcus group G</i>
<i>Staphylococcus cohnii</i>	<i>Streptococcus constellatus</i> **	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>	

*Se necesitan 48 horas de incubación para realizar la detección en CNA-II y en CNA.

Se trata de especies que crecen con más facilidad cuando han tenido un crecimiento anaerobio. Se necesita una incubación anaerobia durante un intervalo de tiempo comprendido entre 42 y 48 horas para realizar la detección en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II y en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**

También se ha analizado una variedad de cocos gram positivos anaerobios (*Peptostreptococcus* y géneros relacionados) en CNA-II y se han comparado con CNA (incubación durante un intervalo de tiempo comprendido entre 42 y 72 horas en una atmósfera anaerobia). Mientras la mayoría de las cepas de prueba ha crecido en ambos medios, algunas cepas de prueba han producido un crecimiento más débil en CNA-II que en CNA.

Limitaciones del Procedimiento

En este medio pueden crecer bacterias gram-negativas que exhiben resistencia a los ingredientes selectivos.

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

Aunque se trate de bacterias gram positivas, es posible inhibir los microorganismos aeróbicos formadores de esporas, como las especies de *Bacillus*, en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood** y en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Algunas corinebacterias y micrococcos experimentarán un crecimiento débil o nulo en **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II**.

Este medio no debe utilizarse para el aislamiento de bacterias anaerobias estrictas. En su lugar, se debe utilizar **BD Schaedler CNA Agar with 5% Sheep Blood** o bien **BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood**.

El número y los tipos de especies bacterianas que actúan como agentes infecciosos son muy grandes. Por tanto, antes de utilizar el medio sistemáticamente para microorganismos de reciente descripción 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 se necesitan pruebas bioquímicas, y (si así se indica) pruebas inmunológicas usando cultivos puros⁷⁻⁹.

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 una hemólisis alfa.

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. MacFaddin, J. F. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 269-275. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Ruoff, K.L., R.A. Whaley, and D. Beighton. 2003. *Streptococcus*. 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.
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. Thomson, R.B., and J.M. Miller. 2003. Specimen collection, transport, and processing: bacteriology. *In*: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Data on file. 2004. Becton Dickinson GmbH, Heidelberg/Germany.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Columbia CNA Agar with 5% Sheep Blood, Improved II

REF	257303	Medio en placas listo para su uso, 20 placas
REF	257306	Medio en placas listo para su uso, 120 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. © 2011 BD