

Especificación

Medio selectivo para aislamiento de cocos gram-positivos en muestras clínicas.

Presentación

| | Encajado | Caducidad | Almacenamiento |
|--|---|-----------|----------------|
| 10 Frascos Botella 125 ml con: 90 ± 3 ml | 1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón inyectable: tapón plástico con rosca. No se recomienda la utilización de jeringas con agujas de diámetro superior a 0,8 mm. | 12 meses | 8-25 °C |

Composición

Composición (g/l):

| | |
|--------------------------------------|--------|
| Digerido pancreático de caseína..... | 10,000 |
| Digerido peptico de carne..... | 5,000 |
| digerido pancreático de corazón..... | 3,000 |
| Extracto de levadura..... | 5,000 |
| Cloruro sódico..... | 5,000 |
| Almidón..... | 1,000 |
| Agar..... | 15,000 |
| Colistina sulfato..... | 0,010 |
| Acido Nalidixico..... | 0,015 |

Descripción/Técnica

Descripción:

Este medio es una modificación del medio Agar Sangre Columbia, donde se ha añadido Colistina Sulfato y Acido Nalidixico, que inhiben las enterobacterias y *Pseudomonas*.

Técnica de uso recomendada:

Fundir el frasco en microondas o al baño maría a 100°C.

Enfriar a 45-50°C, agregar asepticamente 5% de sangre estéril desfibrinada de cordero. Mezclar bien antes de verter.

Las muestras se inoculan directamente sobre la superficie del agar, esparciéndolas para obtener colonias aisladas. Es conveniente realizar algunas picaduras en el agar para depositar los estreptococos beta hemolíticos en una zona profunda, ya que el crecimiento sub-superficial permite que se manifiesten las estreptolisinas tanto las oxígeno-lábiles como las oxígeno resistentes dando reacciones hemolíticas muy claras.

Las placas se incuban en las condiciones protocolizadas (aerobiosis, anaerobiosis o atmósfera enriquecida 5-10% de CO₂) por el laboratorio para cada tipo de muestra.

Tras una incubación de 18-24/48 horas a 35±2°C se examinan las placas observando el crecimiento y, eventualmente, las reacciones hemolíticas:

- Alfa-hemólisis(a): es la reducción de la hemoglobina a methemoglobina en el medio que rodea la colonia, produciendo un halo verdoso.

- Beta-hemólisis(b): es la lisis total de los eritrocitos de la sangre que produce una zona de clareamiento alrededor de la colonia.

- Gamma-hemólisis(g): indica que no hay hemólisis: No se producen cambios en el medio.

- Alfa-prima-hemólisis(a): presenta un halo de lisis completa junto a la colonia y uno de lisis parcial que lo rodea todo.

No obstante, hay que tener en cuenta que el comportamiento hemolítico de los estreptococos depende de muchos factores. Ruoff (1995) señala que la incubación en atmósferas enriquecidas (5-10%) en CO₂ optimiza el comportamiento de los estreptococos beta-hemolíticos y que algunas cepas de los estreptococos del grupo D de Lancefield tienen distinto comportamiento en función del origen de la sangre del medio: En Agar Sangre con sangre de caballo, humana o de conejo son beta-hemolíticos y con sangre de carnero son alfa-hemolíticos.

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : Marrón

pH: 7,2 ± 0,2 a 25°C

Control de Fertilidad

Siembra en Espiral: rango práctico 100 ± 20 UFC. Min. 50 UFC (Productividad) / 10⁴-10⁶ UFC para Selectividad.

Previa adición de Sangre Desfibrinada de Oveja al 5%

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Microaerofilia. Incubar a 35 ± 2 °C durante 18-24h

Microorganismo

Streptococcus pyogenes ATCC® 19615

Stph. aureus ATCC® 25923, WDCM 00034

Streptococcus pneumoniae ATCC® 49619

Proteus mirabilis ATCC® 12453

Desarrollo

Bueno (Beta-hemólisis)

Bueno (Beta-hemólisis)

Bueno (Alfa-hemólisis)

Inhibido

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h a 20-25 °C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografía

- ATLAS, R.M. & L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press. London.
- BARON, E.J., L.R. PETERSON & S.M. FINEGOLD (1994) Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby-Year Book Inc. St Louis, MO. USA.
- CASMAN, E. (1947) A non-infusion blood agar base for neiseriae, pneumococci and streptococci. Am. J. Clin. Path. 17:281-289.
- ELLNER, P.D., C.J. STOESSEL, E. DRAKEFORD, & F. VASI (1966) A new culture medium for medical bacteriology. Amer.J.Clin.Path 45:502-504.
- ESTEVEZ, E.G. (1984) Bacteriological Plate Media: review of mechanisms of action. Lab. Med. 15:258-262.
- ISENBERG H.D. (1992). Clinical Microbiology Procedures Handbook. Vol 1 ASM Washington DC, USA.
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- RUOFF, K.L. (1995) Streptococcus p. 299-305. En Manual of Clinical Microbiology 6th ed. Por Murray, Baron, Pfaller, Tenover y Yolkner (editors) ASM. Washington DC. USA.