

COMBI - PLATE
Agar Sangre (Columbia) /
Agar Thayer Martin

REF 285-610

2



8

IVD Material para Diagnóstico *In Vitro*

Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades, placas Petri de dos sectores, 90 mm x 15 mm. (ref. 285-610).

Composición Agar Base GC (gramos / litro):

Proteosa peptona N°3	15.00
Almidón de maíz	1.00
Cloruro de Sodio	5.00
Fosfato di potásico	4.00
Fosfato monopotásico	1.00
Agar Bacteriológico	15.00

Aditivos (unidades / litro):

Hemoglobina	20.00 g
Inhibidor VCN:	
Nistatina	12500 UI
Colistin sulfato	7.50 mg
Vancomicina	6.00 mg
Suplemento de polienriquecimiento:	
Glutamina	200 mg
Adenina	20 mg
NAD	5 mg
Cocarboxilasa	2 mg
Guanina	0.60 mg
Nitrato ferrico	0.40 mg
Ácido p-amino benzoico	0.26 mg
Vitamina B12	0.20 mg
Tiamina HCl	0.06 mg
Glucosa	1.00 g

pH final medio de cultivo listo para el uso: 7.2 +/- 0.2

Composición agar base Columbia (gramos / litro):

Digesto pancreático de caseína:	10.00
Proteosa peptona N°3	5.00
Extracto de levadura	5.00
Infusión de músculo cardíaco	3.00
Almidón de maíz	1.00
Cloruro de Sodio	5.00
Agar Bacteriológico	15.00

Aditivos (mL / litro):

Sangre de cordero fresca estéril, desfibrinada 50.00

pH final medio de cultivo listo para el uso: 7.3 +/- 0.2

Descripción:

El Agar Thayer Martin preparado con medio base GC, y adicionado de suplementos nutricionales, hemoglobina e

inhibidores, permite obtener un buen desarrollo de Neisserias patógenas tales como *N. gonorrhoeae* y *N. meningitidis*.

El suplemento de polienriquecimiento aportará todos los nutrientes específicos para una adecuada recuperación de Neisserias patógenas. La hemoglobina aporta hemina y el inhibidor VCN otorga selectividad al medio de cultivo, inhibiendo el desarrollo de la flora acompañante, incluyendo a la mayoría de las levaduras patógenas.

La Proteosa peptona n°3 provee una gran variedad de aminoácidos como péptidos de tamaño pequeño. El almidón de maíz y la glucosa actúan como fuente de energía. Las sales de fosfato cumplen un rol tamponante y el cloruro de sodio contribuye a mantener el equilibrio osmótico. El agar es un agente gelificante inerte.

El medio base Agar Columbia adicionado de sangre de cordero (5% a 10%) fue descrito inicialmente en 1966 por Ellner y cols. Esta base permite obtener desarrollos más rápidos y abundantes, con mejores reacciones de hemólisis, producción de pigmentos y una morfología colonial más definida. El Agar Columbia es un medio de cultivo de propósito general que permite recuperar microorganismos comunes y fastidiosos a partir de una gran variedad de muestras. La adición de sangre de cordero, caballo o conejo mejora aún más sus propiedades nutritivas. Las peptonas obtenidas por digesto pancreático de caseína, digesto péptico de tejidos animales, y extracto de carne, proveen una gran variedad de aminoácidos.

El extracto de levaduras aporta una fuente de vitaminas del complejo B en tanto que el almidón de maíz contribuye al aporte de fuentes de energía. Es importante remarcar que el Agar Columbia adicionado de sangre de cordero tiene un contenido relativamente alto de carbohidratos, por esta razón algunas reacciones beta hemolíticas pueden adquirir una tonalidad verdosa que puede ser erróneamente considerada como alfa hemólisis.

El cloruro de sodio contribuye al equilibrio osmótico del medio de cultivo. El agar actúa como agente gelificante

Materiales y Reactivos necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.
Jarras de incubación.
Generadores de atmósfera de CO₂

PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para uso diagnóstico IN VITRO y control microbiológico.
- Solo para uso profesional. Requiere usuarios con entrenamiento previo.
- Contiene compuestos de origen animal, la inocuidad no es garantizada. Requiere manipulación con precaución relativa a productos potencialmente infecciosos. NO INGERIR EL PRODUCTO, NO INHALAR EL PRODUCTO
- No debe ser usado como materia prima para ninguna otra fabricación.
- No debe usarse pasado su fecha de expiración.
- No debe usarse si el envase esta deteriorado. Material garantizado solo con sellos intactos.
- No debe usarse si se observa contaminación biológica.
- Temperar la placa sin sello antes de su uso. No utilizar con condensación excesiva. No resellar.
- Para la interpretación de los resultados se debe tener en cuenta las características propias de cada especie bacteriana sometida a prueba, como asimismo los antecedentes clínicos o epidemiológicos del caso en estudio.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país



Conservación:

Conservado refrigerado entre 2º y 8º C es estable hasta la fecha de caducidad. El medio de cultivo se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) abajo.

Muestras a cultivar:

Muestras de origen clínico que puedan contener bacterias con altos requerimientos nutricionales, tales como *Haemophilus* y otros microorganismos fastidiosos.

Muestras de origen clínico que puedan contener *Neisserias* patógenas, tales como *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*.

Inoculación:

Antes de realizar la siembra, permitir que el medio de cultivo alcance la temperatura ambiente. Sembrar las muestras mediante estría en superficie a partir de muestras primarias. Inocular fuertemente utilizando muestras frescas.

Incubación:

Incubar por 24 a 48 horas entre 35º y 37º C, en atmósfera con 5% a 10% de CO₂.

Lectura e Interpretación de Resultados:

Una vez completado el período de incubación, observar el desarrollo de colonias.

Las colonias de *Neisserias* patógenas son pequeñas (1 a 2 mm), grisáceas, a veces mucoides.

Realice una Tinción de Gram para verificar la morfología y aplique las pruebas de identificación bioquímica necesarias para el diagnóstico de especie.

Control de Calidad:

El usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad. La frecuencia de los controles así como las cepas y condiciones de cultivo deberá establecerlas el propio usuario de acuerdo a la normativa local en vigencia.

A modo de referencia, puede realizarse el siguiente ensayo de control de calidad:

Resultados esperados tras 24 horas de cultivo en atmósfera con 5% de CO₂ a 33º-37º C:

Cepa de Control Sobre Agar Thayer Martin	Resultado esperado
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090	Bueno
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424	Bueno

Cepa de Control Sobre Agar Columbia	Resultado esperado y hemólisis
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Bueno - beta
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Bueno - gamma
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Bueno - alfa
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Bueno - beta

Limitaciones de Uso:

El Agar Columbia suplementado con sangre de cordero es un medio de cultivo no selectivo y de alto valor nutritivo, por lo que también presentarán desarrollo todas las bacterias que no posean requerimientos nutricionales específicos. La falta de inhibidores en esta formulación puede dificultar el aislamiento cuando se trata de cultivar muestras con altas cargas microbianas en las que se espera recuperar bacterias

fastidiosas. Se recomienda para esta finalidad el empleo de Agar Columbia adicionado de inhibidores según los objetivos de aislamiento.

Al evaluar las reacciones hemolíticas se debe tener presente que este medio de cultivo contiene carbohidratos, por lo que pueden observarse algunas tonalidades verdosas para la beta hemólisis.

El Agar Thayer Martin es un medio de cultivo selectivo y de alto valor nutritivo, por lo que solo presentarán desarrollo todas las bacterias que soporten el efecto del inhibidor VCN.

La presencia de inhibidores en esta formulación puede impedir o dificultar el aislamiento de otros microorganismos acompañantes en la muestra.

Mayor tiempo de incubación puede permitir el desarrollo de algunas cepas resistentes a los inhibidores.

Los resultados tienen valor presuntivo. El usuario debe aplicar pruebas adicionales para lograr el diagnóstico de especie microbiana.

Certificados de Análisis:

Certificados de Análisis para cada lote pueden ser consultados por el cliente en el sitio web www.valtekdiagnostics.com

Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico estén utilizados o no, para lo que deberá estar en conocimiento cabal de la normativa local vigente respecto de la disposición de material infeccioso o potencialmente infeccioso. Cada laboratorio asume la responsabilidad de la gestión de sus desechos y efluentes, sea por cuenta propia o mediante terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

Referencias:

Ellner, Stossel, Drakeford and Vasi. AM J. Clin. Path. 45:502-504. 1966. European Pharmacopoeia. 6.3

Thayer, J.D., and J.E. Martin, Jr. 1966. Improved medium selective for cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. Public Health Rep., 81:559.

Murray, P.R., E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover and R.H. Tenover (ed.) 1995 Manual of Clinical Microbiology, 6th ed. American Society for microbiology, Washington, D.C.

Bailey and Scott. Diagnostic Microbiology. Fifth Edition, 1978. The C.V. Mosby Company, St. Louis, USA. Preparation of Transgrow.

Sept. 15. 1971. Venereal Disease Research Lab., C.D.C. Atlanta, Ga., USA.

Rev.2: 00/2010 CIO