

Agar Corn Meal (con Tween 80 y Cloramfenicol)

REF 000-064

2  12

Presentación:

Medio de cultivo listo para su uso, estuche de 10 unidades, Placas de 90 mm. (ref. 000-057 código provisorio).

Composición (unidades / litro):

Extracto de harina de maíz, equivalente a	42.0 g
Tween 80 (polisorbato 80)	10.0 mL
Cloramfenicol	50.0 mg
Agar - Agar Bacteriológico	15.0 g
pH final a 25°C	6.0 +/- 0.2

Descripción:

Medio de cultivo pobre en nutrientes, exento de glucosa, pero con la cantidad mínima de nutrientes necesaria para soportar desarrollo fúngico.

De acuerdo a las experiencias de Pollack y Benham (1960), y a las posteriores modificaciones introducidas por Walker y Hupper, el medio es utilizado especialmente en el estudio morfológico de levaduras del género *Candida* mediante micro cultivo.

El Agar Corn Meal (o Agar Harina de Maíz) contiene Tween 80 (polisorbato 80), agente estimulador de la filamentación y la producción de clamidosporas en levaduras del género *Candida*, especialmente *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. dublinensis* y ocasionalmente *C. tropicalis*.

Materiales necesarios, pero no suministrados:

Estufa de cultivo.
Asas de siembra.
Cubreobjetos.
Microscopio.

PRECAUCIONES PARA SU USO ADECUADO:

- Material para no apto para su uso diagnóstico IN VITRO.
- Solo para uso profesional. Requiere usuarios con capacitación previa.
- 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 microbiana.
- La interpretación de los resultados dependerá del uso definido por el usuario.
- El material utilizado debe descartarse de manera segura de acuerdo a las normativas de bioseguridad vigentes en el país



Conservación:

Conservado refrigerado entre 4° y 12° C es estable hasta la fecha de caducidad. El producto se debe almacenar sellado y con la cubierta de la placa (tapa) abajo. El congelamiento y sobrecalentamiento dañan irreversiblemente sus propiedades. Se recomienda almacenar a temperaturas cercanas a 8°C. *A menor temperatura de almacenamiento mayor probabilidad de condensación, y por tanto mayor riesgo de contaminación por filtración del sello de PVC.*

Uso previsto:

Estudio taxonómico de levaduras mediante inducción de formación de filamentos y clamidosporas.

Muestras a cultivar:

Cepas puras de levaduras previamente aisladas idealmente en Agar Sabouraud dextrosa. El medio de cultivo no es adecuado para cultivos primarios. Se recomienda realizar los estudios antes de la terapia antifúngica.

Inoculación:

Utilice técnica aséptica.

A partir de una cepa de levadura aislada, con un asa en punta tome una pequeña cantidad de la cepa en estudio y realice 2 a 4 siembras en líneas paralelas de unos 10 mm de largo, separadas entre sí por unos 5 a 10 mm. Flamear un cubreobjetos de unos 18 a 20 mm, esperar hasta que este frío y luego cubrir la siembra para permitir un ambiente pobre en oxígeno.

Incubación:

Incubar por 24 a 48 horas a temperatura ambiente (atmósfera aeróbica). Si los resultados son negativos es conveniente cultivar 48 a 72 horas adicionales, y luego repetir la evaluación.

Lectura e Interpretación de Resultados:

Una vez realizada la incubación, coloque el cultivo en el microscopio y examine la formación de clamidosporas con aumento 10X y 40X, especialmente cerca de los bordes del cubreobjetos.

Candida albicans y *Candida dublinensis* pueden producir pseudo hifas, blastoconidias y clamidosporas. En el micro cultivo *Candida albicans* origina pseudo hifas con ramificaciones y grupos de blastoconidias

separadas por intervalos regulares. Las clamidosporas se observan con pared gruesa y en posición terminal en la pseudo hifa.

C. stellatoidea es considerada como una variante genética de *C. albicans*, junto con *Candida dublinensis* con indiferenciables de *C. albicans* mediante esta prueba, y su identificación debe considerar otros procedimientos.

Candida tropicalis produce pseudo hifas ramificadas, sobre las cuales se observan grupos pequeños de blastoconidias redondas. Ocasionalmente origina blastoconidias, y en escasa cantidad.

Con las excepción de *Candida glabrata*, las otras especies del género *Candida* originan pseudo hifas pero no clamidosporas.

Control de Calidad:

El usuario puede someter este medio de cultivo a sus propios controles de calidad. La frecuencia y alcance de los controles deberá establecerlas el propio usuario de acuerdo a sus propios protocolos de trabajo.

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

Cepa de Control	Resultado esperado
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193 o 10231	Pseudo hifas y clamidosporas
<i>Candida kefir</i> ATCC 8553	Pseudo hifas, sin clamidosporas.
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135 o 6528	Pseudo hifas, sin clamidosporas.

Limitaciones de Uso:

El Agar Corn Meal es un medio pobre en nutrientes.

Los resultados son orientativos, deben considerarse otras pruebas para el diagnóstico de especie.

El medio de cultivo no debe usarse para siembra de muestras primarias. Las cepas deben aislarse previamente en Agar Sabouraud dextrosa.

Control de esterilidad*:

1. - No hubo desarrollo a las 48 horas de cultivo (37°C, aeróbico).

2.- No hubo desarrollo a las 96 horas de cultivo (20°C, aeróbico).

Control de fertilidad*:

Al cultivar en este lote las cepas de control que se indican, se esperan los siguientes resultados de desarrollo:

Candida albicans ATCC 10231: pseudohifas y clamidosporas

Candida tropicalis ATCC 9868: pseudohifas

Candida krusei ATCC 6258: pseudohifas

* Cumple norma ISO 13485:2003 y NCh 3162/2.Of2008 Certificados de conformidad para cada lote deben ser solicitados por el cliente.

Eliminación de Desechos:

El usuario es responsable de la adecuada eliminación de los materiales para diagnóstico microbiológico, hayan sido 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 contratos con terceros que garanticen el adecuado tratamiento de estos, y según lo determinen las reglamentaciones locales vigentes.

Referencias:

1. Pollack, J.D., and R.W. Benham. 1960. The chlamyospores of *Candida albicans*: comparison of three media for their induction. J. Lab. Clin. Med. 50:313-317.
2. Walker, L., and M. Huppert 1960. Corn meal-Tween agar: an improved medium for the identification of *Candida albicans*. Tech. Bull. Reg. Med. Technol. 30:10-14.
3. Nash, P., and M.M. Krenz. 1991. Culture media, p. 1226-1288. In A. Balows, W.J. Hausler, Jr., K.L. Herrmann, H.D. Isenberg, and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Cooper, B.H., and M. Silva-Hutner. 1985. Yeasts of medical importance, p. 526-541. In E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. 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.
6. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
7. McGinnis, M.R. 1980. Laboratory handbook of medical mycology, p. 357-359. Academic Press, Inc., New York.
8. Campbell, M.C., and J.L. Stewart. 1980. The medical mycology handbook, p. 188-189. John Wiley & Sons, Inc., New York.

Rev. 1: 03/2013 CIO