

## Agar Biggy / Agar Sal y Manitol

### USO

Agar Biggy (por sus siglas en Inglés Bismuth Glucose Glycine Yeast) es un medio para el aislamiento y diferenciación de levaduras del género *Candida*. También es conocido como Agar de Nickerson.

Agar Sal y Manitol es un medio utilizado para el aislamiento selectivo y diferenciación de estafilococos patógenos a partir de muestras clínicas y de diversos materiales.

### EXPLICACIÓN

**Agar Biggy** es medio es una modificación de la fórmula desarrollada por Nickerson, quién realizó estudios sobre la reducción de sulfito por especies de *Candida*. La diferenciación está basada en la morfología colonial y la pigmentación típica que se presenta en este medio. El extracto de levadura proporciona nutrientes esenciales para el crecimiento, tales como nitrógenos, vitaminas y aminoácidos. La glicina es utilizada para estimular el crecimiento, además por su alta concentración, también inhibe a ciertos grupos bacterianos. La dextrosa es el carbohidrato fermentable, la fuente de carbono y energía. El citrato de amonio y bismuto y el sulfito de sodio actúa como inhibidores del desarrollo bacteriano. Las especies de *Candida* a través de un proceso de reducción del sustrato, reducen la sal de bismuto a bismuto y el sulfito a sulfuro, estos se combina, manifestándose en un precipitado negro a café que pigmenta a las colonias y que en ocasiones difunde en el medio. El agar es adicionado como agente solidificante.

**Agar Sal y Manitol** es un medio altamente selectivo, Koch en 1942, señaló solamente el crecimiento de Estafilococos en medios de cultivo que contenían 7.5% de cloruro de sodio. Chapman en estudios posteriores analizó con mayor detalle y concluyó que al adicionar cloruro de sodio al 7.5% al Agar Rojo de Fenol y Manitol daba como resultado un medio mejorado para el aislamiento de Estafilococos (coagulasa positivo). Este es un medio nutritivo debido al contenido de peptonas y de extracto de carne que proporcionan los factores de crecimiento esenciales como son carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales, la concentración de cloruro de sodio al 7.5% inhibe de forma parcial o completa el crecimiento de otros microorganismos, cuando hay producción de ácido por la fermentación del manitol, ésta es indicada por un cambio en el indicador rojo fenol y las colonias aparecen con un halo amarillo. El agar es adicionado como agente solidificante.

### FÓRMULA POR LITRO

#### Agar Biggy

Citrato de amonio y bismuto	5.0 g	Glicina	10.0 g
Sulfito de sodio	3.0 g	Extracto de levadura	1.0 g
Dextrosa	10.0 g	Agar bacteriológico	16.0 g

pH 6.8 ± 0.2 a 25°C

## Agar Sal y Manitol

Digerido péptico de tejido animal	5.0 g	D-Manitol	10.0 g
Digerido pancreático de caseína	5.0 g	Rojo de fenol	0.025 g
Extracto de carne	1.0 g	Agar bacteriológico	15.0 g
Cloruro de sodio	75.0 g		

pH 7.4 ± 0.2 a 25°C

## PREPARACIÓN

### Método de Preparación del Agar Biggy:

Suspender 45 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. No esterilizar en autoclave. Enfriar a una temperatura entre 45-50 °C y vaciar en uno de los compartimentos de las placas Petri estériles.

### Método de preparación para Agar Sal y Manitol:

Suspender 111 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C y vaciar en uno de los compartimentos de las placas Petri estériles.

### Procedimiento

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
2. Incubar de 35 ± 2°C de 24 a 48 horas aeróbicamente, posteriormente incubar de 20 a 25°C 3 días.

## CARACTERÍSTICAS

El crecimiento, color de la colonia y recuperación de **Agar Biggy** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	COLOR DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Candida albicans</i>	10231	Bueno	Café a negro	≤ 100	≥80%
<i>Candida tropicalis</i>	1369	Bueno	Café oscuro con centro negro	≤ 100	≥80%
<i>Candida krusei</i>	34135	Bueno	Café a negro	≤ 100	≥80%
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibido	-	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>6</sup>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibido	-	10 <sup>4</sup> - 10 <sup>6</sup>	-

### Características coloniales:

**Candida albicans:** Colonias circulares café oscuro a negro, ligero borde micelial.

**Candida tropicalis:** Colonias pequeñas con centro negro, ligero borde micelial, después de 72h el medio presenta color negro difuso.

**Candida krusei:** Colonias grandes café oscuro, planas y rugosas con halo amarillo difundido en el medio.

**Candida kefyr:** Colonias grandes de color rojo oscuro, planas con ligero crecimiento micelial.

**Candida parakrusei:** Colonias medianas, planas rugosas, café-rojizas, con crecimiento micelial amarillo.

Algunas bacterias pueden crecer en el medio y producir un precipitado café, estas pueden ser discriminadas mediante un examen microscópico.

El crecimiento, color de la colonia y recuperación de **Agar Sal y Manitol** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	COLOR DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibición total.	-	>10 <sup>4</sup>	0%
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Inhibición total o parcial.	-	> 10 <sup>4</sup>	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Bueno	Amarillo	≤ 100	≥50%
<i>Staphylococcus aureus</i>	13150	Bueno	Amarillo	≤ 100	≥50%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Bueno	Roja	≤ 100	≥50%

## PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
8574	Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones)	2-8°C
		

## BIBLIOGRAFÍA

- Nickerson, W. J. 1947. Biology of pathogenic fungi. The Chronica Botanica Co., Waltham, MA. USA.
- Nickerson, W. J. 1953. Reduction of inorganic substances by yeasts. I. Extracellular reduction of sulfite by species of *Candida*. J. Infect. Dis. 93:43.
- Baron, E.J., L.R. Peterson and S.M. Finegold. 1994. Bailey & Scot's. Diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, MO.
- MacFaddin, J.D. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1, p. 65-68. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.
- Warren, N. G., and K. C. Hazen. 1995. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. p. 723-737. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover and R. H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. J. Bacteriol. 50:201-203.
- Kloos, W.E., and T.L. Bannerman. 1995. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C., Tenover, and R.H. Tenover (ed.) Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology. Washington, D.C.
- United States Pharmacopeial Convention. 1995. The United States pharmacopeia, 2nd ed. The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, M.D.
- Hitchins, A.D., T.T. Tran, and J.E. MacCarron. 1995. Microbiology methods for cosmetics, p. 23.01-23.12. In Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC. International, Gaithersburg, M.D.
- McColloch Am. j. Vet. Research, 8:173. 1947. Velilla, Faber, and Pelczar Am. J. Vet. Research, 8:275. 1947.
- Jarvik T., Smillie C., Groisman E. A. y Ochman H. 2010 Short-Term Signatures of Evolutionary Change in the *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium 14028 Gemome. Journal of Bacteriology.
- Rodríguez C.E. 2005 Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio. Ed. Universidad de Costa Rica. 475 págs.