

Sistema I (Agar Casman/Agar Thayer Martin)

USO

Agar Casman, es un medio de cultivo que se utiliza para el aislamiento de microorganismos patógenos fastidiosos, como *Haemophilus* y *Neisseria*, a partir de muestras clínicas.

Agar Thayer Martin, es un medio de cultivo enriquecido y selectivo para *Neisseria* enriquecido con hemoglobina y suplemento nutritivo e inhibidor VCNT.

EXPLICACIÓN

Agar Casman: El género *Haemophilus* microorganismos fastidiosos que requieren la adición de factores de crecimiento X y/o V para su cultivo in vitro. Las especies patógenas del género *Neisseria* son también microorganismos con requisitos complejos para su crecimiento. En 1947, Casman describió un medio enriquecido con sangre preparado sin una infusión de la carne fresca para el cultivo de *Haemophilus* y gonococos. Casman encontró que la nicotinamida interfiere con la actividad de una enzima en la sangre que inactiva al factor V (NAD). Usando sangre humana sin calentar, encontró que la concentración de nicotinamida que se requiere para el buen crecimiento de *H. influenzae*, inhibe a los gonococos. Posteriormente, la concentración de nicotinamida se disminuyó para favorecer el crecimiento de *Neisseria*. La peptona de caseína y extracto de carne proporcionan las vitaminas, nitrógeno y aminoácidos al medio. El extracto de levadura proporciona vitaminas del complejo B. El almidón de maíz tiene como función asegurar que cualquier metabolito tóxico producido sea absorbido. El Cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. La nicotinamida es incorporada en el medio para inhibir la nucleotidasa de eritrocitos que destruyen el factor V y favorecer el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* y *Haemophilus influenzae*. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Agar Thayer Martin: La Base de Agar GC es utilizada para preparar las placas de Agar Thayer Martin. Al medio se le agrega hemoglobina al 1.0% requerido para mejorar el desarrollo de *Neisseria* y se añaden antibióticos (VCNT) que le confieren un carácter selectivo, la colistina inhibe bacterias Gram-negativas, la vancomicina inhibe bacterias Gram positivas y la nistatina es adicionada para inhibir las levaduras. El trimetropin inhibe a especies de *Proteus* que tienden a invadir toda la superficie de la placa y no permite la detección de colonias de *Neisseria*

FÓRMULA POR LITRO

Agar Casman

Peptona de caseína	12.0 g	Extracto de carne	3.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g	Ácido p-aminobenzoico	0.05 g
Almidón de maíz	1.0 g	Peptona de carne	5.0 g
Nicotinamida	0.05 g	Agar bacteriológico	13.5 g
Extracto de levadura	3.0 g	Sangre de carnero desfibrinada	100.0 mL
Dextrosa	0.5 g		

pH 7.3 ± 0.2 a 25°C

Agar Thayer Martin

Mezcla de peptonas	15.0 g	Fosfato dipotásico	4.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g	Fosfato monopotásico	1.0 g
Almidón de maíz	1.0 g	Agar bacteriológico	10.0 g
VCNT	10.0 mL	Hemoglobina	10.0 g
Polienriquecimiento	10.0 mL		

pH 7.2 ± 0.2 a 25°C

PREPARACIÓN

Método de preparación para el Agar Casman

Suspender 43 g del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación constante hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para su completa disolución. No sobrecalentar. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C. Adicionar sangre estéril desfibrinada 100 mL. Homogeneizar suavemente y vaciar en placas Petri estériles.

Procedimiento

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
2. Incubar las placas a 35 ± 0.2°C durante 24 a 48 horas en atmósfera de 5-10% de CO₂.

Método de preparación para el Agar Thayer Martin

Suspender 7.2 g del medio en 100mL de agua destilada para obtener una base a doble concentración. Calentar con agitación constante hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para su completa disolución. Por otro lado, preparar 100 mL de una solución al 2% de hemoglobina seca para obtener una solución uniforme. Esterilizar ambas soluciones en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar las soluciones a una temperatura de 45-50 °C, mezclar y agregar aseptícamente 2mL de VCNT y 2mL de polienriquecimiento. Homogenizar y vaciar en placas Petri estériles.

Procedimiento

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
2. Incubar las placas a 35 ± 2° C durante 24 a 48 horas en atmósfera de 5-10% de CO₂.

CARACTERÍSTICAS

El crecimiento, hemolisis y recuperación del **Agar Casman** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	HEMOLISIS	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Bueno	-	≤ 100	≥80%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bueno	Beta	≤ 100	≥80%
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Bueno	-	≤ 100	≥80%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Bueno	Alfa	≤ 100	≥80%

El crecimiento, características de las colonias y recuperación del **Thayer Martin** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	CARACTERÍSTICAS DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Bueno	Pequeñas, lisas, opacas blanco grisáceo	≤ 100	≥80%
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Bueno	Pequeñas, opacas, incoloras o blancas.	≤ 100	≥80%
<i>Neisseria sicca</i>	9913	Inhibición parcial	-	≤ 100	≤25%
<i>Escherichia coli</i>	25922	Inhibición parcial	-	≤ 100	≤25%
<i>Proteus mirabilis</i>	43071	Inhibición parcial	-	≤ 100	≤25%
<i>Candida albicans</i>	60193	Inhibición parcial	-	≤ 100	≤25%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Inhibición parcial	-	≤ 100	≤25%

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
8584	Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones)	2-8°C
		

BIBLIOGRAFÍA

1. Casman, E.P., 1947. A nonifusion blood agar base for Neisseriae, Pneumococci and Streptococci.
2. MacFaddin, J.D., 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance medica bacteria, vol 1.
3. Rinderknecht S., Bryant K., Nolan T., Pavia-Ruz N., Doniz C.A., Rodriguez W. M.A., Cohen C., Aris E. y Mesaros N. 2012 The safety profile of Haemophilus influenza tipe b-Neisseria meningitides serogroups C and Y tetanus tosoid conjugate vaccine (HibMenCY). Landes Bioscience.
4. Miller E., Andrews N., Waight P., Findlow H., Ashton L., England A., Stanford E., Matheson M., SouthernJ., Sheasby E., Goldblatt D. Y Borrow Ray. 2011 Safaty and Immunogenicity of Coadministering a Combined Meningococcal Serogroup Cand Haemophilus influenza Type b Conjugate Vaccine with 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccione and Maesles, Mumps and Rubella Vaccine at 12 Months of Age. American Socyety for Microbiology. 367-372
5. Spray, 1930.J. Lab. Clin. Med. 16:166.
6. Thayer,J.D., and J.E. Martin, Jr. 1966. Impruven medium selective for cultivation of N. gonorrhoeae and Ni.
7. Meningitides. Public Health Rep. 81:559.
8. Martin, J.E., Jr. and J.S. Lewis. 1977. Anisomycin improve anti-mycotic activity in modified Thayer-Martin Medium. Public Health Rep. 35:53
9. Insberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. I. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. Baron,E.J., L.R. Peterson, and S.M. Finegold. 1994. Bailey\$ Scot's diagnostic microbiology, 9th ed. Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, M.o.

OAXACA

ESTADO DE MÉXICO