

Agar GC / Agar Casman 5% SC

USO

Agar GC (Gelosa Chocolate), es un medio utilizado con varios suplementos para el aislamiento y cultivo de *Neisseria gonorrhoeae* y otros microorganismos fastidiosos.

Agar Casman con 5% SC, es un medio de cultivo que se utiliza para el aislamiento de microorganismos patógenos fastidiosos, como *Haemophilus* y *Neisseria*, a partir de muestras clínicas

EXPLICACIÓN

Agar GC: La Base de Agar GC es utilizada para preparar las placas de Agar Gelosa Chocolate suplementada con hemoglobina al 1% que provee la hemina (Factor X) requerida para el crecimiento de *Haemophilus* y mejorar el desarrollo de *Neisseria*, así como suplementos enriquecidos (disponibles comercialmente) que proveen dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), coenzimas, vitaminas, aminoácidos, dextrosa y otros factores de crecimiento, todos ellos necesarios para el mejor desarrollo de *Haemophilus* y *Neisseria*.

En el medio la mezcla de peptonas proveen el nitrógeno, las vitaminas, el carbono y los aminoácidos esenciales para el crecimiento. El almidón es agregado para absorber cualquier metabolito tóxico producido. Los fosfatos actúan como sistema buffer. El cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agar bacteriológico es adicionado como agente solidificante.

Agar Casman 5% SC: 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.

www.mcd.com.mx

OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,
Huertos y Granjas de Brenamiel,
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.
Teléfono: (951) 512 8792

ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,
Barrio Santiaguito,
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95

FÓRMULA POR LITRO

Agar GC

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

pH 7.2 ± 0.2 a 25°C

Agar Casman 5% SC

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

PREPARACIÓN

Método de preparación Agar GC

Suspender 7.2 gramos del medio en 100 mL de agua purificada para obtener una base de doble concentración, mezclar y dejar reposar durante 5 minutos, calentar con agitación frecuente hasta completar la disolución del polvo y hervir durante un minuto. 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 asépticamente 10 mL de polienriquecimiento. Homogenizar y vaciar en uno de los compartimentos de las placas de Petri estériles.

Procedimiento

1. Procesar las muestras de acuerdo a los procedimientos internos de laboratorio o normas aplicables.
2. Incubar en atmósfera aeróbica enriquecida con CO₂ a 35 ± 2°C por 24 a 48 horas.

Método de preparación Agar Casman 5% SC

Suspender 43 gramos 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 de carnero estéril desfibrinada 100mL. Homogeneizar suavemente y vaciar en uno de los compartimentos de las placas de Petri estériles.

www.mcd.com.mx

OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,
Huertos y Granjas de Brenamiel,
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.
Teléfono: (951) 512 8792

ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,
Barrio Santiaguito,
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95

Procedimiento

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
2. Incubar las placas a $35 \pm 2^\circ \text{C}$ durante 24 a 48 horas en atmósfera con 5% de CO_2 .

CARACTERÍSTICAS


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

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	CARACTERÍSTICAS DE LA COLONIA	% DE RECUPERACIÓN
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Bueno	Pequeñas, brillantes, el medio puede decolorarse a color verde.	≥90%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Bueno	Pequeñas, lisas, opacas, incoloras a blanco grisáceo.	≥90%
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Bueno	Medianas, opacas, gris azulado.	≥90%
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Bueno	Pequeñas, húmedas color perla, con olor a "ratón".	≥90%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bueno	Pequeñas, blancas a grises.	≥90%

El crecimiento, hemolisis y de recuperación del **Agar Casman 5% SC** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	HEMOLISIS	% DE RECUPERACIÓN
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Bueno	-	≥90%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bueno	Beta	≥90%
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Bueno	-	≥90%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Bueno	Alfa	≥90%

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
7694	Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones)	2-8°C
		

www.mcd.com.mx

OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,
Huertos y Granjas de Brenamiel,
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.
Teléfono: (951) 512 8792

ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,
Barrio Santiaguito,
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95

BIBLIOGRAFÍA

1. Jhonston, J. 1945. Comparison of gonococcus cultures read at 24 and 48 hours. J. Venerea. Dis. Inform. 26:239
2. Lankford, C.E., V. Scott, M.F. Cox, and W.R. Cooke. 1943. Some aspects of nutritional variation of gonococcus. J. Bacteriol. 45:321.
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.
4. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1 American Society for Microbiology, Washington, D. C.
5. Spray, 1930. J. Lab. Clin. Med. 16:166.
6. Fortuna, 2008 Protocolo de Atención del paciente grave: Normas,, procedimientos y guías de diagnóstico y tratamientos. Ed. Médica Panamericana. Págs. 482.
7. Casman, E.P., 1947. A nonfusion blood agar base for Neisseriae, Pneumococci and Streptococci.
8. MacFaddin, J.D., 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance medica bacteria, vol 1.
9. Rinderknecht S., Bryant K., Nolan T., Pavia-Ruz N., Doniz C. A., Rodríguez W. M.A., Cohen C., Aris E. y Mesaros N. 2012 The safety profile of Haemophilus influenzae type b-Neisseria meningitidis serogroups C and Y tetanus toxoid conjugate vaccine (HibMenCY). Landes Bioscience.
10. Miller E., Andrews N., Waight P., Findlow H., Ashton L., England A., Stanford E., Matheson M., Southern J., Sheasby E., Goldblatt D. Y Borrow Ray. 2011 Safety and Immunogenicity of Co-administering a Combined Meningococcal Serogroup C and Haemophilus influenzae Type b Conjugate Vaccine with 7-Valent Pneumococcal Conjugate Vaccine and Measles, Mumps and Rubella Vaccine at 12 Months of Age. American Society for Microbiology. 367-372.

www.mcd.com.mx

OAXACA (PLANTA)

Camino Antiguo a San Jacinto No.159,
Huertos y Granjas de Brenamiel,
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.
Teléfono: (951) 512 8792

ESTADO DE MÉXICO (CEDIS)

Luis Donaldo Colosio No. 34,
Barrio Santiaguito.
Tultitlán, Estado de México, C.P. 54900
Teléfonos: (55) 53-84-20-50 / 53-84-20-95