

Caldo GC

Cat. 2075

Para el aislamiento y cultivo selectivo de gonococos y especies de Haemophilus cuando se utiliza con hemoglobina y suplementos.

Información práctica

Aplicaciones	Categorías
Aislamiento selectivo	Neisseria
Aislamiento selectivo	Estreptococos
Aislamiento selectivo	Haemophilus

Principios y usos

El Caldo GC se utiliza para preparar la Base de Agar GC con la adición adecuada de agar. Se utiliza junto con diversos aditivos para el aislamiento y cultivo de microorganismos patógenos como Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae y N. meningitidis.

La mezcla de peptonas proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El almidón de maíz absorbe cualquier metabolito tóxico producido. Los fosfatos dipotásico y monopotásico actúan como sistemas tampón. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico.

La Base de Agar GC se emplea con la adición de hemoglobina y suplementos para la preparación de Agar Chocolate y Medio Thayer-Martin. El Agar Chocolate se prepara con la adición de un 2% de hemoglobina. La adición de hemoglobina proporciona hemina (factor X), requerida por las especies de Haemophilus y que promueve el crecimiento de las especies de Neisseria.

También se requiere un enriquecimiento químico compuesto de cofactores, vitaminas y nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para el crecimiento de Haemophilus y Neisseria spp. Si es necesario, se agregan suplementos antimicrobianos como inhibidores para mejorar la selectividad del medio.

El medio Thayer-Martin se recomienda para el aislamiento primario de N. gonorrhoeae y N. meningitidis de muestras con otras bacterias. Está diseñado para reducir el crecimiento excesivo de gonococos y meningococos por los contaminantes, para suprimir el crecimiento de la especie de Neisseria saprofitas y para fomentar el crecimiento de Neisseria patógena. Las colonias típicas de N. gonorrhoeae en el medio Thayer-Martin son de color blanco grisáceo, opacas, a veces brillantes, de apariencia granular fina, de tamaño variable (1-2 mm), redondas con bordes enteros o lobulados y mucoides después de las 48 horas de incubación.

La muestra debe colocarse en la superficie de la placa asegurándose de que el inóculo esté contenido en un área relativamente pequeña. Salir de este área producirá colonias bien aisladas. Incubar en una atmósfera húmeda al 5-10% de CO₂ y a 35 °C durante 40-48 horas. Para colonias aisladas sospechosas, realizar la prueba de oxidasa y una tinción de Gram.

En estudios de carbohidratos que utilizan el Medio CTA (Cat. 1502) con azúcares seleccionados al 1%, N. gonorrhoeae fermenta solo glucosa con producción de ácido pero no con producción de gas. N. meningitidis fermenta la glucosa y la maltosa con ácido pero sin producción de gas. Las pruebas de carbohidratos se llevan a cabo incubando el medio durante 1-4 días a 35 °C, aeróbicamente y sin CO₂.

Los agentes antimicrobianos en fórmulas selectivas como el Medio Thayer-Martin inhiben algunas cepas de N. gonorrhoeae, por lo tanto, es aconsejable sembrar las placas de Agar Chocolate no selectivas para cultivar estos organismos.

Fórmula en g/L

Almidón de Maiz	1	Fosfato dipotásico	4
Fosfato monopotásico	1	Mezcla de peptona	15
Cloruro sódico	5		

Fórmula típica g / L * Ajustada y/o suplementada según sea necesario para cumplir con los criterios de rendimiento.

Preparación

Suspender 26 gramos de medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Agregar 10 g de agar al caldo antes de esterilizar para preparar la Base de Agar GC. Por otro lado, autoclavar 250 ml de una solución de hemoglobina al 2% elaborada agregando agua gradualmente a 5 gramos de hemoglobina seca para obtener una suspensión uniforme, antes de exponerla al calor del autoclave. Enfriar ambos matraces a 50 °C, agregar asepticamente la solución de hemoglobina a la Base de Agar GC y mezclar suavemente. Añadir asepticamente el Suplemento de Polienriquecimiento (Cat. 6011), 1 vial A reconstituido en 1 vial B, por cada 250 ml de medio + 250 ml de solución

estéril de hemoglobina al 2%. Mezclar cuidadosamente para evitar la formación de burbujas. Verter en placas o en tubos con tapones de rosca. Permitir que los tubos se solidifiquen con una superficie amplia inclinada.

La Base de Agar Gc también se puede preparar agregando los siguientes suplementos:

1. Suplemento VCN (Cat. 6013). Este suplemento convierte el medio en Thayer Martin Medium.
2. Suplemento VCAT (Cat. 6014). Este suplemento se utiliza para el aislamiento de Neisseria.
3. Suplemento VCNT (Cat. 6026). Este suplemento también se utiliza para el aislamiento de Neisseria.
4. Suplemento LCAT (Cat. 6012). Este suplemento se utiliza para el aislamiento de patógenos Neisseria. Debe agregarse después de añadir sangre de caballo lisada en lugar de hemoglobina y suplemento de polienriquecimiento.

Nota: El suplemento VCAT y el suplemento VCNT contienen diferentes antibióticos (uno cada uno) y diferentes concentraciones de los mismos antibióticos (tres) dentro de ambos. La elección debe hacerse de acuerdo a la selectividad requerida.

Cuando se agreguen el suplemento VCN, el suplemento VCAT y el suplemento VCNT, se debe emplear el Suplemento de Polienriquecimiento y el 2% de hemoglobina.

Instrucciones de uso

Recurrir a referencias y procedimientos apropiados para obtener resultados.

- Incubar a una temperatura de 35 ± 2 °C durante 40-48 horas.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25°C)
Opalescente	Polvo fino	Beige	Ámbar claro, ligeramente opalescente	7,2±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (35 ± 2 °C / 40-48 h).

Microrganismos	Especificación
Neisseria meningitidis ATCC 13090	Buen crecimiento
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Buen crecimiento
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Buen crecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.: 2 °C

Temp. Max.: 25 °C

Bibliografía

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.

Thayer, J. D. Martin J. E., 1966. Improved medium selective for the cultivation of N. gonorrhoeae and N. meningitidis. Public Health Rep. 81. 559-562.