

Medios de Cultivo para el
aislamiento e Identificación de
Neisseria gonorrhoeae

Lic. Eduardo Antonio Valdés Ramos, MSc.

Diagnóstico de *Neisseria gonorrhoeae*

- Tinción de Gram: Diplococos Gram -
- Catalasa: +
- Oxidasa: +
- Aislamiento en Medio Thayer-Martin
- Producción de Acido en Medio CTA con:
 - Glucosa: +
 - Lactosa: -
 - Sacarosa: -
 - Maltosa: -

MEDIO THAYER-MARTIN

- BASE DE AGAR GC
- HEMOGLOBINA o SANGRE DESFRIBRINADA ESTERIL DE CARNERO
- SUPLEMENTO SELECTIVO: VCN o VCNT
- SUPLEMENTO NUTRICIONAL:
 - VITOX (OXOID)
 - POLIVITEX (BIOMERIEUX)
 - BIOVITEX (BIOLIFE)
 - ISOVITALEX (DIFCO)

BASE DE AGAR GC

<u>Fórmula</u>	<u>g/L</u>
• Politona [*]	15.0
• Almidón de Maíz ^{**}	1.0
• Fosfato Dipotásico ^{***}	4.0
• Fosfato Monopotásico ^{***}	1.0
• Cloruro de Sodio ^{****}	5.0
• Hemoglobina ^{*****}	10.0
• Agar ^{*****}	10.0

• pH 7.2

- ^{*}: Fuente de Nitrógeno y Carbono
- ^{**} : Absorbe los productos tóxicos del metabolismo microbiano.
- ^{***} : Buffer fosfato que permite la estabilidad en el pH.
- ^{****} : Equilibrio osmótico
- ^{*****} : Factor de crecimiento
- ^{*****} : Agente gelificante

SUPLEMENTO VCN o VCNT

- Fórmula en 1 vial:

Vancomicina	1.5 mg
Colimicina	3.75 mg
Nistatina	6,250 UI
Trimethoprim	2,5 mg

- Vancomicina: inhibe cocos Gram +
- Colimicina: inhibe cocos Gram –
- Nistatina: hongos
- Trimethoprim: inhibe crecimiento en sábana de Proteus spp.

SUPLEMENTO VITOX (POLIVITEX o ISOVITALEX)

<u>Fórmula</u>	<u>g/L</u>
• Vitamina B12	0.010
• L-Glutamina	10.00
• Adenina	1.00
• Clorhidrato de Guanina	0.030
• Acido para-aminonobenzoico	0.013
• L-Cistina	1.100
• Glucosa	100.00
• Difosfopiridina nucleótido oxidasa	0.250
• Cocarboxilasa	0.100
• Nitrato férrico	0.020
• Clorhidrato de tiamina	0.03
• Clorhidrato de cisteina	25.900

PREPARACIÓN

(Utilizando Hemoglobina)

- Pesar 18 g de Base GC y disolverla en 250 mL de agua destilada. Pesar 5 g de hemoglobina y disolverla en 250 mL de agua destilada.
- Esterilizar ambas soluciones a 121 °C durante 15 minutos.
- Enfriar a 45-50 °C. Mezclar la solución de base GC con la solución de hemoglobina.
- Rehidratar el suplemento selectivo VCN o VCNT y el suplemento Biovitex (Isovitalex) y añadir a la mezcla.
- Verter en placas Petri y dejar enfriar.
- Almacenar las placas a 2-8 °

PREPARACIÓN

(UTILIZANDO SANGRE DESFRIBRINADA ESTERIL DE CARNERO)

- Pesar 18 g de Base GC y disolverla en 450 mL de agua destilada.
- Esterilizar a 121 °C durante 15 minutos.
- Dejar enfriar a 45-50 °C. Añadir 50 mL de sangre desfibrinada estéril de carnero.
- Calentara a 80 °C durante 10 minutos.
- Dejar enfriar a 50 °C.
- Rehidratar el suplemento selectivo VCN o VCNT y el suplemento Biovitex (Isovitalex) y añadir a la mezcla. Si no se dispone del Vitox o Isovitalex se puede añadir suero de ternero al 2 % en el medio de cultivo (2 mL/ 100 mL de medio de cultivo)
- Verter en placas Petri y dejar enfriar.
- Almacenar las placas a 2-8 °

Agar Cistina Tripticasa

<u>Fórmula</u>	<u>g/L</u>
• Cistina	0.5
• Tripcase (Tryptona)	20.0
• Cloruro de sodio	5.0
• Sulfito de sodio	0.5
• Rojo fenol	0.017
• Agar	2.5
•	pH 7.3

PREPARACION

- Pesar 28.5 del medio deshidratado en 1 litro de agua destilada. Si se desea añadir el azúcar en este momento (en la proporción del 0.5-1%).
- Mezclar y calentar agitando frecuentemente hasta la ebullición. Repartir en tubos de 13 x 100 mm (4 mL/tubo).
- Esterilizar en autoclave a 115-118 °C (no sobrepasar esta temperatura) durante 15 minutos.
- Dejar enfriar los tubos en posición vertical.
- Conservarlos a temperatura ambiente.
- **NO PONERLOS EN EL REFRIGERADOR**

BIBLIOGRAFIA

- Manuales de Medios de Cultivo.

MUCHAS GRACIAS