



BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitalX)



L007446 • Rev. 10 • Abril 2015

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD

I INTRODUCCION

Chocolate II Agar es un medio enriquecido para el cultivo de las especies *Neisseria* y *Haemophilus*.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Con un asa calibrada de 0,01 mL, inocular las superficies inclinadas con diluciones al 10^{-1} de cultivos de caldo de soja **Trypticase** de 18 a 24 h.
 - b. Incubar los tubos con las tapas flojas a 35 ± 2 °C en una atmósfera aerobia suplementada con dióxido de carbono.
2. Examinar los tubos después de 18 – 24 h y 48 h para determinar el crecimiento.
3. Resultados previstos

Organismos de control (cepas ATCC)

**Neisseria gonorrhoeae* (43069).....Crecimiento
**Haemophilus influenzae* (10211).....Crecimiento
Neisseria meningitidis (13090).....Crecimiento
Streptococcus pneumoniae (6305)Crecimiento

*Tinción de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

NOTA: Deben ser controlados por los usuarios, según CLSI M22-A3.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos como se describe en la sección "Deterioro del producto".
2. Examinar a simple vista los tubos representativos para cerciorarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Incubar los tubos representativos inoculados a una temperatura de 20 a 25 °C y de 30 a 35 °C y examinar después de 7 días de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Chocolate II Agar slant es un medio mejorado para uso en procedimientos cualitativos para cultivo de microorganismos exigentes, en especial las especies *Neisseria* y *Haemophilus*, a partir de una variedad de muestras clínicas.

V RESUMEN Y EXPLICACION

Carpenter y Morton describieron un medio mejorado para el aislamiento de gonococos en 24 h¹. La eficacia del medio, agar GC suplementado con hemoglobina y concentrado de levadura, fue demostrada en un estudio de doce medios utilizados en aquella época para el aislamiento de este organismo². **BBL** mejoró el medio al reemplazar el concentrado de levadura con enriquecimiento **IsoVitalX**, un suplemento de definición química desarrollado específicamente para facilitar el crecimiento de los gonococos, aunque presenta amplia aplicación con otros organismos, por ejemplo, *Haemophilus*³⁻⁵. Mediante la selección cuidadosa y previo análisis de las materias primas, el medio en tubo preparado de Chocolate II favorece el crecimiento de gonococos y la especie *Haemophilus*.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Chocolate II Agar contiene una base de agar GC II mejorado, hemoglobina bovina y enriquecimiento **IsoVitalX**. La base GC contiene nutrientes nitrogenados en forma de caseína y peptonas de carne, tampón de fosfato para mantener el pH y almidón de maíz, que neutraliza los ácidos grasos tóxicos que pueden estar presentes en el agar. La hemoglobina proporciona el factor X (hemina) para la especie *Haemophilus*. El enriquecimiento **IsoVitalX** es un suplemento definido que proporciona el factor V (nicotinamida adenina dinucleótido, NAD) para la especie

Haemophilus, además de vitaminas, aminoácidos, coenzimas, dextrosa, iones férricos y otros factores que favorecen el crecimiento de la *Neisseria* patógena.

VII REACTIVOS

Chocolate II Agar (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaleX Enrichment)

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada	
Digerido pancreático de caseína	7,5 g
Peptona de carne seleccionada	7,5 g
Almidón de maíz	1,0 g
Fosfato dipotásico	4,0 g
Fosfato monopotásico	1,0 g
Cloruro sódico	5,0 g
Agar	12,0 g
Hemoglobina	10,0 g
Enriquecimiento IsoVitaleX	10,0 mL

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Enriquecimiento IsoVitaleX

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada	
Vitamina B ₁₂	0,01 g
L-glutamina	10,0 g
Adenina	1,0 g
Clorhidrato de guanina	0,03 g
Ácido <i>p</i> -aminobenzoico	0,013 g
Nicotinamida adenina dinucleótido	0,25 g
Pirofosfato de tiamina	0,1 g
Nitrato férrico	0,02 g
Clorhidrato de tiamina	0,003 g
Clorhidrato de L-cisteína	25,9 g
L-cistina	1,1 g
Dextrosa	100,0 g

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todo el proceso. Después de su utilización, los recipientes para muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

En el momento de recibirlos, guardar los tubos en un lugar oscuro a una temperatura de 2 – 8 °C. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. No abrir hasta que vayan a utilizarse. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los periodos recomendados de incubación. Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{6,7}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben tomarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Chocolate II Agar Slants

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliares, reactivos, organismos de control de calidad y el equipo de laboratorio según se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

1. Chocolate II Agar Slants se utilizan principalmente para el cultivo y mantenimiento de cultivos puros. Los agares inclinados deben inocularse con un asa llena de cultivo.
2. Colocar el cultivo tan pronto como sea posible en atmósfera aerobia enriquecida con dióxido de carbono.
3. Incubar a 35 ± 2 °C y examinar la incubación al día siguiente y otra vez después de aproximadamente 48 h.

NOTA: Los subcultivos para la identificación de *N. gonorrhoeae* deben realizarse en un plazo de 18 – 24 h.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

El control de calidad debe llevarse a cabo conforme a la normativa local y/o nacional, a los requisitos de los organismos de acreditación y a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio. Se recomienda consultar las instrucciones de CLSI y normativas de CLIA correspondientes para obtener información acerca de las prácticas adecuadas de control de calidad.

X RESULTADOS

La morfología característica de las colonias en Chocolate II Agar es la siguiente:

<i>Haemophilus influenzae</i>	Pequeñas (1 mm), húmedas, nacaradas con un olor de "ratón" característico
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Pequeñas, de color blanco grisáceo a incoloro, mucoides
<i>Neisseria meningitidis</i>	Medianas a grandes, gris azulado, mucoides
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colonias pequeñas, brillantes y planas que muestran una decoloración verde en el medio.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Chocolate II Agar es un medio enriquecido en el que las bacterias indeseables o no patógenas pueden superar en crecimiento a las bacterias patógenas.

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados⁶⁻⁸.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX) se analizan para determinar sus características de rendimiento. Se inoculan muestras representativas del lote con 0,01 mL de una dilución 10^{-1} de cultivos de caldo de soja Trypticase de 24 h de *Neisseria gonorrhoeae* (ATCC 43069), *Neisseria meningitidis* (ATCC 13090) y *Haemophilus influenzae* (ATCC 10211). Los tubos, con las tapas flojas, se incuban a 35 ± 2 °C en atmósfera aerobia suplementada con dióxido de carbono. Después de 18 – 24 h, se observa crecimiento de moderado a denso en los agares inclinados para todos los organismos analizados.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat.	Descripción
295872	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX), pqt. de 10 tubos de tamaño K
299452	BD BBL Chocolate II Agar Slants (GC II Agar with Hemoglobin and IsoVitaléX), caja de 100 tubos de tamaño K

XIV REFERENCIAS

1. Carpenter, C.M., and H.E. Morton. 1947. An improved medium for isolation of the gonococcus in 24 hours. Proc. N.Y. State Assoc. Public Health Labs. 27:58-60.
2. Carpenter, C.M., M.A. Bucca, T.C. Buck, E.P. Casman, C.W. Christensen, E. Crowe, R. Drew, J. Hill, C.E. Lankford, H.E. Morton, L.R. Peizer, C.I. Shaw, and J.D. Thayer. 1949. Evaluation of twelve media for the isolation of the gonococcus. Am. J. Syphil. Gonorrh. Venereal Diseases 33:164-176.
3. Power, D.A. (ed.), and P.J. McCuen. 1988. Manual of BBL products and laboratory procedures, 6th ed. Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD.
4. Martin, J.E., T.E. Billings, J.F. Hackney, and J.D. Thayer. 1967. Primary isolation of *N. gonorrhoeae* with a new commercial medium. Public Health Rep. 82:361-363.
5. Vastine, D.W., C.R. Dawson, I. Hoshiwara, C. Yonega, T. Daghfous, and M. Messadi. 1974. Comparison of media for the isolation of Haemophilus species from cases of seasonal conjunctivitis associated with severe endemic trachoma. Appl. Microbiol. 28:688-690.
6. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
8. Holt, J.G., N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. Williams (ed.). 1994. Bergey's Manual™ of determinative bacteriology, 9th ed. Williams & Wilkins, Baltimore.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD