

IVD

1- USO PREVISTO

El agar sangre base es un medio que permite el aislamiento de bacterias exigentes y la demostración de sus características hemolíticas, sin interferir en la formación de pigmentos.

2- PRINCIPIO

La proteosa peptona así como el extracto de levadura y el extracto de carne proporcionan fuentes de carbono, vitaminas, nitrógeno y aminoácidos, necesarios para el crecimiento bacteriano.

La adición de sangre fresca proporciona factores de crecimiento suplementarios, necesarios para el crecimiento de bacterias exigentes.

Este medio se usa generalmente como base para:

- agar sangre fresco (sangre de caballo u oveja).
- agar chocolate (sangre cocida).

3- CÓMO SE SUMINISTRA

- Medio deshidratado:
 - frasco de 500 g código 64524

4- COMPOSICIÓN TEÓRICA (g/l de agua destilada)

El agar sangre base se elabora de acuerdo con la fórmula descrita por Brown (1).

Proteosa Peptona	15
Extracto de carne	2,5
Extracto de levadura	2,5
Cloruro sódico	5
Agar	14
pH final:	7,3 ± 0.2

Preparación del medio:

Homogeneice el polvo contenido en el frasco.

Añada **40 gramos** de medio deshidratado a un litro de agua destilada estéril. Caliente suavemente, agitando con frecuencia y luego caliente hasta hervir y que se consiga la disolución completa. Esterilice en el autoclave a 121°C durante 15 minutos y dispense en placas de Petri o en frascos.

Para agar sangre fresco:

- Añada 5% a 10% de sangre estéril (sangre de oveja o de caballo) a la base estéril derretida enfriada a 45°C.
- Después de agitar cuidadosamente, evitando la inclusión de burbujas de aire, dispense en placas de Petri o frascos.

Para agar chocolate:

- Añada sangre de caballo estéril al 10% al agar base.
- Agite la mezcla a 80°C durante unos 10 minutos hasta que se obtenga un color chocolate. Dispense en placas de Petri o frascos.

5- CONSERVACIÓN

- Medio deshidratado: frasco cerrado herméticamente en un lugar seco a +15-25°C.

La fecha de caducidad y el número de lote están indicados en el envasado.

6- INSTRUCCIONES**Material:**

- Material suministrado: Agar sangre base.
- Material específico no suministrado:
 - Sangre de caballo.
 - Sangre de oveja (código 56652).

Inoculación:

Inocule tomando directamente de la muestra a examinar. Consúltense las recomendaciones actuales para la conservación de muestras biológicas (2).

Incubación:

Incuba durante 24 a 48 horas a 37°C, posiblemente en una atmósfera microaerófila o anaerobia, dependiendo de la naturaleza de la bacteria examinada.

Lectura:

Observe las características hemolíticas de las colonias:

- sin hemólisis: color inicial del medio.
- α hemólisis: zona **verdosa** con contornos borrosos alrededor de la colonia.
- β hemólisis: zona **transparente** con contornos bien definidos alrededor de la colonia.

7- RENDIMIENTO / CONTROL DE CALIDAD DE LA PRUEBA

- Aspecto del medio deshidratado: polvo **beige**.
- Los rendimientos de crecimiento del agar sangre base + sangre de oveja o caballo al 5% al 10% (agar con sangre fresca) se verifican con las siguientes cepas:

CEPAS	RESULTADO DEL CULTIVO DESPUÉS DE 24 A 48 horas a 37 °C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Buen crecimiento, β hemólisis
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Buen crecimiento, β hemólisis
<i>Streptococcus bovis</i> CIP 56.23	Buen crecimiento, sin hemólisis
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Buen crecimiento, α hemólisis verdosa
<i>Neisseria meningitidis</i> (+ CO ₂) ATCC 13090	Buen crecimiento, sin hemólisis
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Buen crecimiento, ligera β hemólisis

- Los rendimientos de crecimiento del medio agar sangre base + sangre de caballo cocida al 10% (agar chocolate) se verifican con las siguientes cepas:

CEPAS	RESULTADO DEL CULTIVO DESPUÉS DE 24 A 48 horas a 37 °C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Buen crecimiento
<i>Streptococcus pneumoniae</i> CIP A146	Buen crecimiento
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (+ CO ₂) ATCC 19424	Buen crecimiento
<i>Neisseria meningitidis</i> (+ CO ₂) ATCC 13077	Buen crecimiento
<i>Haemophilus influenzae</i> (+ CO ₂) CIP 52151	Buen crecimiento

8- CONTROL DE CALIDAD DEL FABRICANTE

Todos los reactivos fabricados se elaboran según nuestro sistema de calidad, que va desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización final del producto. Cada lote se somete a valoraciones de control de calidad y sale al mercado sólo cuando está de acuerdo con los criterios de aceptación predefinidos. Los registros relativos a la producción y al control de cada lote se conservan en Bio-Rad.

9- LÍMITES DE USO

- Debido a los requisitos nutricionales, algunas cepas pueden no crecer en este medio.
- Las características hemolíticas de algunas cepas de Streptococci de grupo D se ven afectadas por el tipo de sangre usada: β -hemolíticas en la sangre de caballo, conejo o humana y α -hemolíticas en sangre de oveja.
- Las colonias de *Haemophilus haemolyticus* son β -hemolíticas en sangre de caballo y de conejo y por tanto, deben diferenciarse de otros Streptococci β -hemolíticos de acuerdo con otros criterios. En este caso, se recomienda el uso de sangre de oveja, porque inhibe el crecimiento de *Haemophilus haemolyticus*.
- La atmósfera de incubación influye en las reacciones de β -hemólisis de los Streptococci. Por tanto, se recomienda incubar este medio en una atmósfera de CO₂ o en condiciones anaerobias.
- Deben realizarse pruebas complementarias para identificar la especie de la cepa aislada.

10- BIBLIOGRAFÍA

1. BROWN, J.H.. 1919. The use of blood agar for the study of streptococci, NY Monograph No 9. The Rockefeller Institute for Medical Research.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

