

Agar Sangre / Agar Chocolate

USO

Agar Sangre es utilizado para el aislamiento, cultivo y actividad hemolítica de *Streptococos* y otros microorganismos fastidiosos.

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

EXPLICACIÓN

Agar Sangre: Es un Agar Soya Trypticaseína (AST) que adicionado de sangre de carnero es un medio enriquecido, que favorece las reacciones hemolíticas además de que proporciona factores de crecimiento, las peptonas proveen la fuente de nitrógeno, vitaminas y aminoácidos esenciales. El Cloruro de Sodio tiene la función del balance osmótico y el Agar bacteriológico es incorporado como agente solidificante.

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.

FÓRMULA POR LITRO

Agar Sangre

Digerido Pancreático de Caseína	15.0 g	Cloruro de Sodio	5.0 g
Peptona de Soya	5.0 g	Agar Bacteriológico	15.0 g
Sangre de carnero desfibrada	50.0 mL		

pH 7.4 ± 0.2 a 25°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

Agar Gelosa Chocolate

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			

PREPARACIÓN

Método de preparación Agar Sangre

Suspender 40 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar y calentar con agitación suave hasta su completa disolución y hervir durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50 °C, adicionar asépticamente 50 mL de sangre de carnero desfibrinada estéril al medio y vaciar en uno de los compartimentos de las placas dobles de Petri estériles.

Procedimiento

1. Sembrar las muestras de acuerdo a los procedimientos internos de laboratorio.
2. Incubar aeróbicamente o bajo condiciones de atmosfera parcial de CO₂, según los procedimientos establecidos a 35± 2°C de 24 a 48 horas.
3. Los tipos de hemólisis que pueden presentarse son:
 - a. Alfa (α)-hemólisis: Es la reducción de hemoglobina a metahemoglobina en el medio que rodea a la colonia; presentándose como una decoloración verdosa en el medio.
 - b. Beta (β)-hemólisis: Es la lisis de los eritrocitos; presentándose como zonas claras alrededor de las colonias.
 - c. Gama (γ)-hemólisis: Indica no hemólisis. No ocurre destrucción alguna de los eritrocitos y no hay cambio en el medio.
 - d. Alfa prima (α')-hemólisis: Se observa un pequeño halo de células intactas o parcialmente hemolisadas adyacente a la colonia bacteriana, rodeada por una zona de hemólisis completa.

Método de preparación Agar Gelosa Chocolate

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 1^o mL de polienriquecimiento. Homogenizar y vaciar en uno de los compartimentos de las placas dobles 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. 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.

CARACTERÍSTICAS

El crecimiento, hemolisis y recuperación del **Agar Sangre** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	HEMOLISIS	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bueno	Beta	≤ 100	≥ 80%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Bueno	Alfa	≤ 100	≥ 80%
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Bueno	Beta	≤ 100	≥ 80%
<i>Escherichia coli</i>	25922	Bueno	-	≤ 100	≥ 80%

El crecimiento característico colonial y recuperación del **Agar Gelosa Chocolate** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	CARACTERÍSTICAS DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Bueno	Pequeñas, brillantes, el medio puede decolorarse a color verde.	≤ 100	≥80%
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Bueno	Pequeñas, lisas, opacas, incoloras a blanco grisáceo.	≤ 100	≥80%
<i>Neisseria meningitidis</i>	13090	Bueno	Medianas, opacas, gris azulado.	≤ 100	≥80%
<i>Haemophilus influenzae</i>	10211	Bueno	Pequeñas, húmedas color perla, con olor a "ratón".	≤ 100	≥80%
<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Bueno	Pequeñas, blancas a grises.	≤ 100	≥80%

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
7664	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. Leavit., J.M. Naidorf and P. Shugaefsky. 1955. The undetected anaerobe in endodontic, a sensitive medium for detection of both aerobes and anaerobes. The NY.J. Dentist. 25:377-382
2. Curry.,A. S.,G.G., Joyce, and G.N. Mc Ewwn,Jr. 1993. CTFA Microbiology guidelines. The cosmetic,Toiletry and Fragance . Association. Inc.Washington,DC.
3. Brown, J.H. 1919. The use of blood agar for the study of streptococci. NY Monograph No. 9 The Rockefeller Institute for Medical Research.
4. The United States Pharmacopeia (USP XXIII) and The National Formulary (NF18). 1995 Sterility test, p. 1686-1690. United States Pharmacopeia Convention Inc., Rockville, MD.
5. Vera and Power. 1980 In Lennette, Balows,Hausler and Truand (ed.) Manual of clinical microbiology, 3rd ed. ASM, Washington, D.C.
6. Jhonston,J. 1945. Comparison of gonococcus cultures read at 24 and 48 hours. J. Venrea. Dis. Inform. 26:239
7. Lankford, C.E., V. Scott, M.F. Cox, and W.R. Cooke.1943. Some aspects of nutritional variation of gonococcus. J. Bacteriol. 45:321.
8. 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.
9. Isenberg, H.D. (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1 American Society for Microbiology, Washington, D. C.
10. Spray, 1930. J. Lab. Clin. Med. 16:166.
11. Fortuna, 2008 Protocolo de Atención del paciente grave: Normas, procedimientos y guías de diagnóstico y tratamientos. Ed. Médica Panamericana. Págs. 482.

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