

## Agar Sangre / Agar Eosina y Azul de Metileno (EMB)

### USO

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

**Agar Eosina y Azul de metileno (EMB)** es un medio selectivo y diferencial para Enterobacterias lactosa positivas. Este medio también es conocido como Agar EMB por sus siglas en inglés.

### EXPLICACIÓN

**Agar Sangre** es Agar Soya Trypticaseína (AST) 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.

La fórmula original del **Agar EMB** fue desarrollada por Holt-Harris y Teague. El uso de la eosina y del azul de metileno permite la diferenciación de las colonias fermentadoras de lactosa de las no fermentadoras, esto permite distinguir algunos géneros como Salmonella y Shigella que se aprecian incoloras. La sacarosa está incluida en el medio para detectar a los miembros del grupo coliforme que fermentan más rápidamente la sacarosa que la lactosa, y las colonias se verán de color púrpura y pueden presentar un centro oscuro, además, estarán rodeadas de una zona incolora. Estos dos colorantes que se adicionan al medio también inhiben el crecimiento de la flora acompañante, principalmente las Gram-positivas. Este medio se considera superior al Agar ENDO, ya que resulta ser un medio más sensible, estable y seguro, permite una diferenciación más temprana entre las colonias fermentadoras y no fermentadoras de lactosa.

El Agar EMB es una combinación de la fórmula original y la de Levine donde las peptonas proveen la fuente de nitrógeno, la eosina y el azul de metileno son colorantes que se combinan para formar un precipitado a pH ácido. Los colorantes actúan como inhibidores e indicadores. Los carbohidratos proporcionan la fuente de energía, los fosfatos actúan como buffer y el agar 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](http://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 Eosina y Azul de Metileno*

|                                  |        |                     |         |
|----------------------------------|--------|---------------------|---------|
| Digerido pancreático de gelatina | 10.0 g | Fosfato dipotásico  | 2.0 g   |
| Sacarosa                         | 5.0 g  | Azul de metileno    | 0.065 g |
| Eosina Y                         | 0.4 g  | Agar bacteriológico | 15.0 g  |
| Lactosa                          | 5.0 g  |                     |         |
| 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 asepticamente 5% de sangre de carnero defibrinada estéril al medio y vaciar en uno de los compartimentos de las placas dobles de Petri estériles.

### *Procedimiento*

1. Inocular las placas de acuerdo a procedimientos internos de laboratorio.
2. Incubar aeróbicamente o bajo condiciones de atmosfera parcial de CO<sub>2</sub>, 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 meta-hemoglobina 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 hemolizadas adyacente a la colonia bacteriana, rodeada por una zona de hemólisis completa.

### *Método de preparación Agar Eosina y Azul de Metileno*

Suspender 36 gramos del medio en un litro de agua purificada. Mezclar bien 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 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 en condiciones aeróbicas las placas 35 + 2°C durante 24 a 48 horas y observar el crecimiento.

#### **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

## CARACTERÍSTICAS

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

| MICROORGANISMOS                 | ATCC  | CRECIMIENTO | HEMOLISIS | INOCULO<br>cfu/mL | % DE<br>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, características de colonia y recuperación de **Agar Eosina y Azul de Metileno** se describe en la siguiente tabla:

| MICROORGANISMOS                                    | ATCC  | CRECIMIENTO                   | CARACTERÍSTICA DE<br>LA COLONIA      | INOCULO<br>cfu/mL                | % DE<br>RECUPERACIÓN |
|----------------------------------------------------|-------|-------------------------------|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------|
| <i>Escherichia coli</i>                            | 25922 | Bueno                         | Púrpura con brillo<br>verde metálico | ≤100                             | >80%                 |
| <i>Proteus mirabilis</i>                           | 12453 | Bueno                         | Incoloras,<br>transparentes          | ≤100                             | >80%                 |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>                      | 13048 | Bueno                         | Centro púrpura y<br>borde rosado     | ≤100                             | >80%                 |
| <i>Salmonella enterica</i> serotipo<br>Typhimurium | 14028 | Bueno                         | Incoloras,<br>transparentes a rosa   | ≤100                             | >80%                 |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                       | 25923 | Inhibición total<br>o parcial | Puntiformes                          | 10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup> | ≤25%                 |
| <i>Enterococcus faecalis</i>                       | 29212 | Inhibición total<br>o parcial | Puntiformes                          | 10 <sup>4</sup> -10 <sup>6</sup> | ≤25%                 |

## PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

| CAT. No                                                                             | PRESENTACIÓN                                                 | ALMACENAMIENTO |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|----------------|
| 7844                                                                                | Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones) | 2-8°C          |
|  |                                                              |                |

[www.mcd.com.mx](http://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 Fragrance . 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. Holt-Harris., J.E., and O. Teague. 1916. A new culture medium for the isolation of *Bacillus typhosa* from stools. J. Infect. Dis. 18:596-600.
7. Levine, M.,M. 1918. Differentiation of *E. coli* and *B. aerogenes* on a simplified Eosin-Methylene Blue Agar. J. Infect.Dis. 23:43
8. Gray. L.,D. 1995 *Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia*, p.450-456. In. P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller,F.C. Tenover,and R.H. Tenover (ed), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington D.C.
9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos: Suplemento para Dispositivos Médicos. 5a. Ed. -- México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2023.

[www.mcd.com.mx](http://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