

# USO DE SANGRE OVINA EN LAS PREPARACIONES DE AGAR



VOL. 2  
MARZO 2020

BOLETÍN CPC

## HISTORIA

### *Agar sangre*

El agar (gelosa) sangre como se utiliza hoy en día, fue introducido por primera vez en Francia en 1903 por Bezançon y Griffon. Estos autores agregaban sangre de perro o conejo recién extraída al agar nutritivo fundido, para el aislamiento de *Mycobacterium tuberculosis*. En ese mismo año Schottmüller en Alemania, sembró estreptococos de diversos orígenes en agar sangre, y se dio cuenta que presentaban diferentes reacciones hemolíticas, por lo que por primera vez usó este criterio con fines taxonómicos. En 1919, Brown publicó su trabajo pionero en este campo, titulado: "The Use of Blood Agar for the Study of Streptococci" (El uso de agar sangre para el estudio de estreptococos), en el cual clasificó a los miembros del género *Streptococcus* según tres tipos de hemólisis (alfa, beta y gamma).

Durante la década de 1920, varios autores compararon la efectividad de la sangre humana y de varios animales para demostrar las reacciones hemolíticas en agar sangre. Se concluyó definitivamente que la sangre desfibrinada de ovino es muy superior a la de otras especies para este propósito. Por este motivo, desde esa época se recomienda su uso rutinario para optimizar y facilitar el diagnóstico bacteriológico en general.

## APLICACIÓN

El agar sangre es un medio de cultivo sólido enriquecido, diferencial pero no selectivo. Es utilizado para la recuperación y crecimiento de una gran variedad de microorganismos provenientes de muestras clínicas o para subcultivos. Al mismo tiempo, permite la caracterización diferencial de estas bacterias en función de sus patrones hemolíticos.



Parte de nuestro rebaño ovino de la raza Black belly, la cual ha sido considerada como una de las mejores razas para preparaciones de medios de cultivo con sangre.

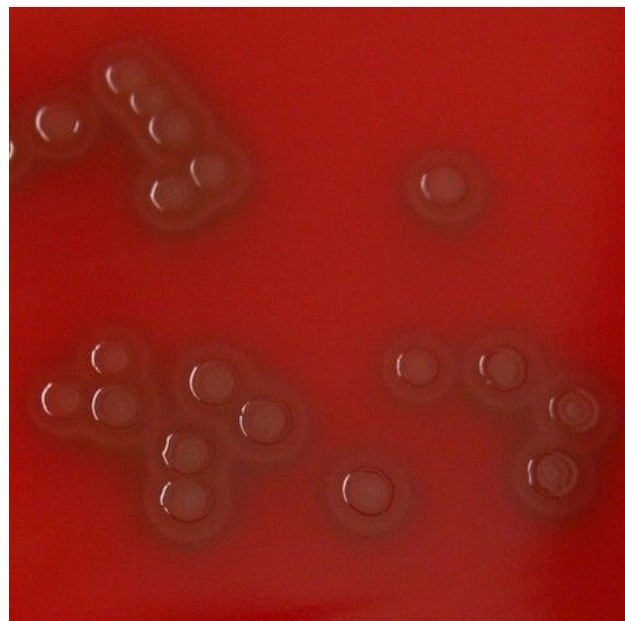
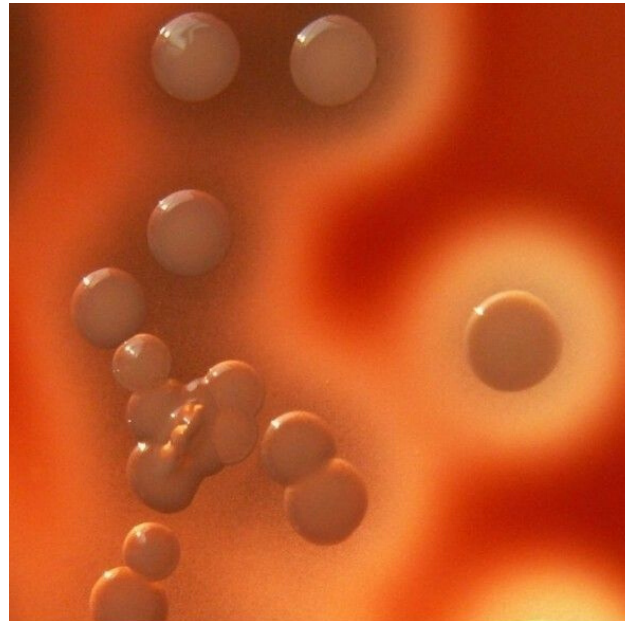
# AGAR SANGRE

## Definiciones

La determinación de las características de crecimiento, la morfología de las colonias y los patrones hemolíticos en las placas de agar con sangre son un paso inicial importante en la identificación de bacterias patógenas.

El agar suplementado con 5% de sangre desfibrinada es un medio de crecimiento general que se usa habitualmente en el laboratorio de microbiología clínica para la identificación de organismos patógenos pero, al mismo tiempo, permite la caracterización diferencial de estas bacterias según sus patrones hemolíticos. Por ejemplo: se pueden clasificar diferentes especies de estreptococos de acuerdo con los 3 tipos de reacciones hemolíticas. Las cepas  $\beta$ -hemolíticas hemolizan completamente los eritrocitos, generando una zona clara al redor de la colonia. Los patógenos que muestran  $\beta$ -hemolisis incluye a *S. pyogenes* (faringitis, artritis reumatoide y glomerunonetrifis) y *S. agalactiae* (importante en sepsis neonatal). La hemolisis parcial que produce una descoloración verdosa en el agar se observa en cepas  $\alpha$ -hemolíticas, las que incluyen a *S. pneumoniae* (neumonía y meningitis). Las cepas como *S. bovis* (causante de una infección asociada con cáncer gastrointestinal), no hemolizan la sangre y se les clasifica como  $\gamma$ -hemolítico.

*"El principal problema para evitar el uso de sangre humana en la preparación de los medios de agar sangre es que puede contener anticuerpos, antitoxinas o antimicrobianos que impiden el crecimiento de bacterias."*



Arriba: Beta hemolisis - *Streptococcus pyogenes*.  
Abajo: Alfa hemolisis - *Streptococcus pneumoniae*



# ¿POR QUE DEBE EVITARSE EL USO DE SANGRE HUMANA?

## Desventajas

Dada la alta prevalencia del VIH, la hepatitis y otras infecciones transmitidas por la sangre, la preparación de medios de sangre humana representa un riesgo de infección considerable para el personal de laboratorio. Además, muchas bacterias patógenas muestran hemolisis y patrones de crecimiento alterados, cuando se cultivan en placas de agar preparadas a partir de sangre humana en comparación con la sangre animal, lo que resulta en un diagnóstico erróneo de enfermedades infecciosas. Así como también, halos de inhibición más grandes que no corresponden con el método estandar de sensibilidad antimicrobiana recomendado por el CLSI (Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico).

La pérdida de la viabilidad de los glóbulos rojos de las unidades de los bancos de sangre, se ha correlacionado con las "lesiones de almacenamiento", que se asocia con varios cambios bioquímicos. Estos cambios incluyen una disminución en el pH, una disminución en el consumo de glucosa, una acumulación de ácido láctico, una disminución en los niveles de ATP y una pérdida irreversible de la función de los glóbulos rojos. Por lo tanto es lógico concluir que si la sangre se va a desechar, entonces su contenido / nutrientes podrían no ser los mismos en comparación con el suministrado por la sangre de ovino, por lo que esto afectaría el agar producido.

El crecimiento alterado y las reacciones hemolíticas de las bacterias cultivadas en los medios con sangre ovina versus humana pueden deberse a diferencias en la morfología y la composición de la membrana de los glóbulos rojos que afectan su capacidad de ser lisados por hemolisinas bacterianas.

*"El principal problema para evitar el uso de sangre humana en la preparación de medios es que puede contener anticuerpos, antitoxinas o antimicrobianos que impiden el crecimiento de bacterias."*

Esto también puede verse demostrado en la prueba de CAMP. Las discrepancias en los resultados de la prueba CAMP se han atribuido a diferencias en el contenido de esfingomiélinina de la membrana. La reacción CAMP, que se usa comúnmente para identificar el estreptococo del Grupo B, depende de dos factores: el factor CAMP secretado por el estreptococo del Grupo B y una esfingomiélinasa secretada por *Staphylococcus aureus*. La hidrólisis de la esfingomiélinina en la membrana de los glóbulos rojos sensibiliza al eritrocito a la acción lítica del factor CAMP, lo que resulta en un área de hemólisis mejorada cuando el estreptococo del Grupo B se cultiva cerca de *S. aureus*. Los glóbulos rojos de ovinos con un contenido de esfingomiélinina de hasta el 51% producen los mejores resultados en la prueba CAMP, mientras que las células humanas, con solo un 26% de contenido de esfingomiélinina, no respaldan en absoluto la reacción CAMP.

### Prueba de CAMP:

La reacción positiva aparece como una zona de hemólisis en forma de punta de flecha en la intersección de los dos microorganismos cuando se siembran en proximidad. Esta prueba sirve para diferenciar estreptococos del grupo B de otras especies, así como también *Listeria monocytogenes* (prueba de CAMP positiva).



**Estudios comparativos indican que el uso de sangre ovina es superior a la sangre humana en las diferentes pruebas de identificación y sensibilidad bacteriana.**

Característica	Agar con sangre ovina	Agar con sangre humana
Tamaño y morfología colonial	Colonias de tamaño normal según cepa bacteriana	Colonias más pequeñas
Hemolisis	Franca	No se distingue claramente
Prueba de Camp	Positiva	Negativa
Antibiograma	Halos según método estándar	Halos agrandados, falsos positivos

#### Referencias

- BBL.(s.f.). Preparaciones de Sangre Animal: Aplicaciones.
- BIO BACTE SANGRE DE CARNERO. (s.f.). ¿Por qué sangre de carnero en el laboratorio clínico? Guatemala: Serviprensa Centroamericana .
- Dilrukshi, G., Jayewardane, U., Sajidha, F., & Dissanayake, D. (2018). Human, cattle and goat blood as substitute for sheep blood in blood-supplemented culture media. Sri Lankan Journal of Infectious Diseases 2018, 12.
- Magbojos, C. R., Aro, R. S., Caringal, M. S., Castillo, M. M., Llanes, D.A., & Sumaray, K. D. (2011). Preparation of he Blood-Enriched Agar with the Use of Red Cell Suspension. Asian Journal of Health Clinical Research Section, 16.
- Russell, F. M., Biribo, S. N., Selvaraj, G., Oppedisano, F., Warren, S.,
- Seduadua, A., . . . Carapetis, J. (2006). As a Bacterial Culture Medium, Citrated Sheep Blood Agar is a Practical Alternative to Citrated Human Blood Agar in Laboratories of Developing Countries. Journal of Clinical Microbiology, 6.
- Satzke, C., Seduada, A., Chandra, R., Carapetis, J. R., Mulholland, E., & Russell, F. M. (2010). Comparison of Citrated Human Blood, Citrated Sheep Blood, and Defibrinated Sheep Blood Mueller-Hinton Agar Preparations for Antimicrobial Susceptibility Testing of Streptococcus pneumoniae Isolates. Journal of Clinical Microbiology, 3.
- Yeh, E., Pinsky, B. A., Bananei, N., & Baron, E. (2009). Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Dignostic Microbiology Laboratory Tests. PLOS ONE, 8.

## MEDIOS DE CULTIVO CON SANGRE DISPONIBLES EN CPC:

- Agar Soya Tripticasa 5% sangre
- Agar Infusión de cerebro y corazón 10% sangre
- Medio Mueller-Hinton 5% sangre
- Columbia con ácido nalidíxico
- Medio de Casman 5% sangre



**Encuentra estos medios de cultivo, colorantes, soluciones y muchos productos más sólo en CPC.**

# CENTRO DE PATOLOGÍA CLÍNICA

COMPROMETIDOS A MEJORAR LA CALIDAD DE LOS SERVICIOS DE LA RED DE LABORATORIOS DEL PAÍS.



2232-5406 | 2239-0691 | 9437-9482

promocionyventas@cpchn.org

www.cpchn.org

Edificio Cáceres, 1 nivel. Ave. Juan

Manuel Gálvez, Col. Alameda

Tegucigalpa, Honduras