

Agar Sangre/Agar Dextrosa Sabouraud/Agar Mac Conkey

USO

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

Agar Dextrosa Sabouraud es un medio utilizado para el cultivo de hongos y levaduras.

Agar Mac Conkey es un medio selectivo para el aislamiento de coliformes.

EXPLICACIÓN

Agar Sangre: 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.

Agar Dextrosa Sabouraud es utilizado para el cultivo de hongos patógenos y no patógenos que se logra mediante la adición de cloranfenicol, particularmente de aquellos asociados con infecciones de piel. La alta concentración de dextrosa y la acidez del pH hacen a éste un medio selectivo para hongos. Con la adición de cicloheximida, estreptomycin y penicilina, se obtiene un excelente medio para el aislamiento primario de dermatofitos. Este medio es también utilizado para la determinación microbiológica en cosméticos y para evaluar la presencia de hongos en alimentos.

En este medio las peptonas proveen la fuente de carbono y nitrógeno para el crecimiento de los microorganismos, la dextrosa actúa como fuente de energía y el agar es agregado como agente solidificante

Agar Mac Conkey es un medio selectivo y diferencial recomendado para el aislamiento e identificación de Enterobacterias a partir de muestras clínicas, alimentos, agua, productos lácteos y productos farmacéuticos. En este medio se aíslan y diferencian bacilos entéricos Gram negativos fermentadores y no fermentadores de la lactosa.

El medio contiene gelatina y mezcla de peptonas que proporcionan los nutrientes básicos: nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos. La lactosa es el carbohidrato fermentable y proporciona la fuente de energía. El cloruro de sodio favorece el crecimiento de *Salmonella* y *Shigella*. Las sales biliares y el cristal violeta son los agentes selectivos que inhiben a los microorganismos Gram positivos y permiten el crecimiento de microorganismos Gram negativos. El rojo neutro es el indicador de pH. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Las colonias aisladas de bacterias que fermentan la lactosa son rosadas y pueden estar rodeadas de una zona de precipitado de sales biliares el cual es debido a una caída en el pH por la fermentación de la lactosa. Las colonias que no fermentan la lactosa, como la de *Salmonella enterica* serotipo Typhi, *Salmonella enterica* serotipo Paratyphi y *Shigella dysenteriae* permanecen incoloras.

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 desfibrinada	50.0 mL		

pH 7.4 ± 0.2 a 25°C

Agar Dextrosa Sabouraud

Dextrosa	40.0 g	Digerido péptico de tejido animal	5.0 g
Peptona de caseína	5.0 g	Agar bacteriológico.	15.0 g

pH 5.6 ± 0.2 a 25°C

Agar Mac Conkey

Digerido pancreático de gelatina	17.0 g	Sales biliares	1.5 g
Digerido péptico de tejido animal	1.5 g	Cloruro de sodio	5.0 g
Digerido pancreático de caseína	1.5 g	Cristal violeta	0.001 g
Lactosa	10.0 g	Agar bacteriológico	13.5 g
Rojo neutro	0.03 g		

pH 7.1 ± 0.2 a 25°C

PREPARACIÓN

Método de preparación del Agar Sangre:

Suspender 40 g 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 aseptícamente 50mL de sangre de carnero desfibrinada estéril al medio y vaciar en uno de los compartimentos de las placas triples 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 del Agar Dextrosa Sabouraud

Suspender 65 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 triples de Petri estériles.

Procedimiento

1. Sembrar las muestras de acuerdo a los procedimientos internos de laboratorio o normas aplicables.
2. Incubar las placas en condiciones aeróbicas a 35± 2°C de 24 a 48 horas y posteriormente a 25±2°C, hasta 7 días.

Método de preparación del Agar Mac Conkey

Suspender 50 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 triples de Petri estériles.

Procedimiento

1. Inocular las muestras de acuerdo a procedimientos internos de laboratorio.
2. Incubar en condiciones aeróbicas a 35 ± 2°C de 24 a 48 horas.

CARACTERÍSTICAS

El crecimiento, hemolisis y recuperación de **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, color de la colonia y recuperación del **Agar Dextrosa Sabouraud** describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	COLOR DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	9533	Bueno	Blanca, reverso blanco a marrón	Sin diluir	≥ 70
<i>Candida albicans</i>	10231	Bueno	Blanca a Crema	≤ 100	≥ 70
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9763	Bueno	Blanca a crema	≤ 100	≥ 70
<i>Escherichia coli</i>	25922	Bueno	Blanca a crema	≤ 100	≥ 70
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	16404	Bueno	Blanco a negro reverso amarillo	≤ 100	≥ 70

El crecimiento, características de las colonias y recuperación de **Agar Mac Conkey** se describe en la siguiente tabla:

MICROORGANISMOS	ATCC	CRECIMIENTO	CARACTERÍSTICAS DE LA COLONIA	INOCULO cfu/mL	% DE RECUPERACIÓN
<i>Escherichia coli</i>	25922	Bueno	Rosa con halo de precipitado	≤ 100	≥80%
<i>Salmonella enterica</i> serotipo Typhimurium	14028	Bueno	Incoloras, transparentes	≤ 100	≥80%
<i>Shigella flexneri</i>	12022	Bueno	Incoloras, transparentes	≤ 100	≥80%
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	Bueno	Rosa, mucoide	≤ 100	≥80%
<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Bueno	Incoloras, opacas sin swarming	≤ 100	≥80%
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Inhibido	Rosa puntiforme	10 ⁴ -10 ⁶	≤25%

Interpretación: Los microorganismos lactosa positiva dan colonias de color rosa con o sin zona de precipitado alrededor.

Los microorganismos lactosa negativos dan colonias incoloras o de color rosa tenue.

PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

CAT. No	PRESENTACIÓN	ALMACENAMIENTO
8354	Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con tres divisiones)	2-8°C
		

BIBLIOGRAFÍA

1. MacConkey, A. 1905. Lactose-fermenting bacteria in feces. *J. Hyg.* 5:333-379.
2. United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1995. The United States pharmacopeia, 23 ed. The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, M. D.
3. Food and Drug Administration. 1995 Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International. Gaithersburg, MD.
4. Gray, L.D. 1995 Escherichia, Salmonella, Shigella and Yersinia, p450-456. 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.
5. MacConkey J. H. 5:33. 1905. Joseph Md. State. Dept. Health. Procedures, 1960. European Pharmacopoeia. 4th Ed. 2002.
6. Song Y., Roumagna P., Weill F-X., Wain J., Dolecek C., Mazzone C.J., Holt K.E., y Achtman M. 2010 A multiplex single nucleotide polymorphism typing assay for detecting mutations that result in decreased fluoroquinolone susceptibility in Salmonella enteric serovars Typhi and Paratyphi A. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* Vol. 65 1631-1641.
7. Jarvik T., Smillie C., Groisman E. A. y Ochman H. 2010 Short-Term Signatures of Evolutionary Change in the Salmonella enterica Serovar Typhimurium 14028 Genome. *Journal of Bacteriology.* Vol. 192 No. 2 560-567.
8. Porwollik S. 2011 Salmonella: From Genome to Function. Ed. Ilustrada Horizon Scientific Press. 300 Págs.
9. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos: Suplemento para Dispositivos Médicos. 3a. Ed. -- México: Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 2014.
10. Leavitt, 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.*
11. Vera and Power. 1980 In Lennette, Balows, Hausler and Tenover (ed.) Manual of clinical microbiology, 3rd ed. ASM, Washington, D.C.
12. Chapman, G.H. 1945. The significance of sodium chloride in studies of staphylococci. *J. Bacteriol.* 50:201-203.
13. Kloos, W.E., and T.L. Bannerman. 1995. Staphylococcus and Micrococcus. 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.
14. United States Pharmacopeial Convention. 1995. The United States pharmacopeia, 2nd ed. The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, M.D.
15. Hitchins, A.D., T.T. Tran, and J.E. MacCarron. 1995. Microbiology methods for cosmetics, p. 23.01-23.12. In Bacteriological analytical manual, 8th ed. AOAC International, Gaithersburg, M.D.
16. McCulloch Am. j. Vet. Research, 8:173. 1947. Velilla, Faber, and Pelczar Am. J. Vet. Research, 8:275. 1947.
17. Jarvik T., Smillie C., Groisman E. A. y Ochman H. 2010 Short-Term Signatures of Evolutionary Change in the Salmonella enterica Serovar Typhimurium 14028 Genome. *Journal of Bacteriology.*
18. Rodríguez C.E. 2005 Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio. Ed. Universidad de Costa Rica. 475 págs.