

## Sistema II (Agar Sangre / Agar Casman)

### USO

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

**Agar Casman** utilizado para el aislamiento de microorganismos patógenos fastidiosos, como *Haemophilus* y *Neisseria*, a partir de muestras clínicas.

### EXPLICACIÓN

**Agar Sangre:** Es un Agar Soya Tripticaseína (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 Casman:** es utilizado para el aislamiento de los miembros del género *Haemophilus* que son microorganismos fastidiosos que requieren la adición de factores de crecimiento X y/o V para su cultivo in vitro. Las especies patógenas del género *Neisseria* son también microorganismos con requisitos complejos para su crecimiento. En 1947, Casman describió un medio enriquecido con sangre preparado sin una infusión de la carne fresca para el cultivo de *Haemophilus* y gonococos. Casman encontró que la nicotinamida interfiere con la actividad de una enzima en la sangre que inactiva al factor V (NAD). Usando sangre humana sin calentar, encontró que la concentración de nicotinamida que se requiere para el buen crecimiento de *H. influenzae*, inhibe a los gonococos. Con posterioridad, la concentración de nicotinamida se disminuyó para favorecer el crecimiento de *Neisseria*. En este medio la peptona de caseína y extracto de carne proporcionan las vitaminas, nitrógeno y aminoácidos. El extracto de levadura proporciona vitaminas del complejo B. El almidón de maíz tiene como función asegurar que cualquier metabolito tóxico producido sea absorbido. El Cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. La nicotinamida es incorporada en el medio para inhibir la nucleotidasa de eritrocitos que destruyen el factor V y favorecer el crecimiento de *Neisseria gonorrhoeae* y *Haemophilus influenzae*. El agar bacteriológico es el 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 desfibrinada  | 50.0 mL |                     |        |

**pH 7.4 ± 0.2 a 25°C**

## **Agar Casman**

|                      |        |                                |          |
|----------------------|--------|--------------------------------|----------|
| Peptona de caseína   | 12.0 g | Extracto de carne              | 3.0 g    |
| Cloruro de sodio     | 5.0 g  | Ácido p-aminobenzoico          | 0.05 g   |
| Almidón de maíz      | 1.0 g  | Peptona de carne               | 5.0 g    |
| Nicotinamida         | 0.05 g | Agar bacteriológico            | 13.5 g   |
| Extracto de levadura | 3.0 g  | Sangre de carnero desfibrinada | 100.0 mL |
| Dextrosa             | 0.5 g  |                                |          |

pH 7.3 ± 0.2 a 25°C

## **PREPARACIÓN**

### **Método de preparación del 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 aseptícamente 50 mL 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 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 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 Casman**

Suspender 43 gramos del medio en un litro de agua purificada. Calentar con agitación constante hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para su completa disolución. No sobrecalentar. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos. Dejar enfriar a una temperatura entre 45-50°C. Adicionar 100 mL de sangre de carnero estéril desfibrinada. Homogeneizar suavemente y vaciar en uno de los compartimentos de las placas triples de Petri estériles.

## Procedimiento

1. Inocular las placas con la muestra previamente procesada de acuerdo a los procedimientos establecidos.
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.

## 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, hemolisis y recuperación del **Agar Casman** se describe en la siguiente tabla:

| MICROORGANISMOS                 | ATCC  | CRECIMIENTO | HEMOLISIS | INOCULO<br>cfu/mL | % DE<br>RECUPERACIÓN |
|---------------------------------|-------|-------------|-----------|-------------------|----------------------|
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i>    | 19424 | Bueno       | -         | ≤ 100             | ≥80%                 |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>   | 19615 | Bueno       | Beta      | ≤ 100             | ≥80%                 |
| <i>Haemophilus influenzae</i>   | 10211 | Bueno       | -         | ≤ 100             | ≥80%                 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 6305  | Bueno       | Alfa      | ≤ 100             | ≥80%                 |

## PRESENTACIÓN Y ALMACENAMIENTO

| CAT. No   | PRESENTACIÓN   | ALMACENAMIENTO |
|---|--|----------------|
| 8534  | Medio preparado en Placa (Pqte/10 Placas con dos divisiones) | 2-8°C          |
|  |  |                |

## 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. 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. Spray, 1930. J. Lab. Clin. Med. 16:166.
10. 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

Camino Antiguo a San Jacinto No.159, Huertos y Gran-  
jas de Brenamiel,  
San Jacinto Amilpas, Oaxaca, C.P. 68285.  
Teléfonos: (951) 512 8792

### ESTADO DE MÉXICO

Boulevard Centro Industrial No.1017,  
Industrial Puente de Vigas,  
Tlalnepantla de Baz, Estado de México, C.P. 54070  
Teléfonos: (55) 53-84-20-50/53-84-20-95/53-84-20-70