

BRITASHEEP SANGRE OVINA DESFIBRINADA ESTÉRIL

REF B0360860

REF B0360884

REF B0360885

IVD

→ USO

La sangre ovina desfibrinada estéril es un suplemento que al ser incorporado a los medios de cultivo favorece el desarrollo de microorganismos exigentes en sus requerimientos nutricionales y permite la clara visualización de las reacciones de hemólisis. Es utilizado en la preparación de Agar Sangre, Agar Mueller Hinton Sangre y Agar Chocolate.

FUNDAMENTO

El agregado de sangre a los medios de cultivo permite el desarrollo de una amplia variedad de microorganismos debido a que aporta factores de crecimiento y neutraliza efectos tóxicos de metabolitos y radicales libres por las enzimas catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa presentes en los glóbulos rojos. Estos compuestos tóxicos pueden ser generados durante el tratamiento térmico de los medios de cultivo.

En microbiología se utiliza sangre ovina desfibrinada estéril obtenida de animales sanos sin el uso de anticoagulantes ya que estos pueden interferir en el desarrollo microbiano afectando la disponibilidad de nutrientes.

No se recomienda el uso de sangre humana debido a las posibles interferencias en el diagnóstico al procesar muestras clínicas por la presencia de factores inmunológicos.

En la preparación de agar sangre, se agrega sangre ovina en concentración 5-10 %. Los medios recomendados para visualizar reacciones de hemólisis son: Columbia Agar Base, Tripteína Soya Agar, Sangre Agar Base, Sangre Agar Base con Azida y Nutritivo Agar.

Para la realización de la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos en especies de estreptococos mediante la técnica de difusión en agar, se debe utilizar Mueller Hinton Agar suplementado con 5% de sangre ovina.

En el Agar Chocolate se agrega sangre ovina desfibrinada estéril en concentración 5-10% al medio Columbia Agar Base o al GC Agar Base. En caso que se requiera preparar Agar Chocolate enriquecido, agregar también Britalex con Solvente. (REF B0360021).

El Agar Chocolate se utiliza especialmente para el crecimiento de *Haemophilus* spp. y *Neisseria* spp.

La sangre ovina desfibrinada estéril ha sido empleada como crioprotector para la conservación de cepas a temperatura de congelación. En este caso es necesario realizar envasado aséptico utilizando material e insumos estériles.

CONTENIDO

Código B0360860: envase x 10 ml.

Código B0360884: envase x 50 ml.

Código B0360885: envase x 100 ml.

INSTRUCCIONES

Una vez que el medio de cultivo al cual se adicionará la sangre ovina se encuentra esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C, proceder de la siguiente manera:

Preparación de Agar Sangre: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles. Si se utilizará para el aislamiento de bacterias anaerobias, se recomienda suplementar además el medio con extracto de levadura, vitamina K y hemina.

Preparación de Agar Mueller Hinton Sangre: agregar 5 % de sangre ovina desfibrinada estéril. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

Preparación de Agar Chocolate: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril. Calentar a 80°C durante 10 minutos mezclando frecuentemente. Dejar enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Sangre ovina desfibrinada estéril obtenida de animales sanos por personal especializado. No contiene anticoagulantes. Color rojo y hematocrito mayor o igual a 30%.

ALMACENAMIENTO

A 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Dependerá de la prueba a realizar:

- Directa, estriando la superficie del medio de cultivo.
- Hisopado en superficie (fundamentalmente para la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos).

Incubación

El tiempo, la temperatura y la atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera recuperar.

En general se recomienda:

Bacterias de fácil crecimiento: en aerobiosis, a 33-37 °C durante 18 a 24 horas.

Bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales: en atmósfera con 5 % de CO₂, a 33-37 °C durante 24-48 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar las características de las colonias.

Para el medio de cultivo conteniendo sangre, observar las reacciones de hemólisis:

Hemólisis alfa: lisis parcial de los glóbulos rojos. Se observa un halo de color verdoso alrededor de la colonia en estudio.

Es debido a la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina (compuesto de color verdoso) por el peróxido de hidrógeno generado por los microorganismos.

Hemólisis beta: lisis total de los glóbulos rojos. Se observa un halo claro, brillante alrededor de la colonia en estudio.

Hemólisis gamma: ausencia de lisis de los glóbulos rojos. El medio de cultivo no presenta modificaciones de color y aspecto alrededor de la colonia en estudio.

En el caso de Agar Mueller Hinton sangre: medir el diámetro de los halos de inhibición del desarrollo bacteriano frente a diversos antimicrobianos.

CONTROL DE CALIDAD

MEDIO DE CULTIVO: AGAR SANGRE

Microorganismos	Crecimiento	Hemólisis
Streptococcus pyogenes ATCC 19615	Satisfactorio	Beta
Streptococcus pneumoniae ATCC 6305	Satisfactorio	Alfa
Streptococcus pneumoniae ATCC 49619	Satisfactorio	Alfa

MEDIO DE CULTIVO: AGAR CHOCOLATE

Microorganismos	Crecimiento
Neisseria gonorrhoeae ATCC 49226	Satisfactorio
Haemophilus influenzae ATCC 49247	Satisfactorio

Control de esterilidad	Resultado
Medio sin inocular	Sin Cambios

LIMITACIONES

- Conservar a 2-8 °C. No congelar el producto.
- Dejar que alcance temperatura ambiente previo a su utilización.
- Los medios de cultivo detallados previamente son específicos y son los de elección para la visualización de las reacciones hemolíticas. Si se adiciona sangre ovina a medios con alto contenido de glucosa, no se logra la adecuada visualización de la hemólisis.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o dete-

rioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.

- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Isenberg (ed.). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Murray P.R., Baron, Pfaller, Tenover and Tenover. 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, versión vigente. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, ex NCCLS).

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento. Conservar el producto según las indicaciones del rótulo. No congelar

AUTORIZACIÓN ANMAT

Códigos: B0360860, B0360884, B0360885
PM 1292-27
Dir Técnico Bioq. Alejandro Rossi

SIMBOLOS UTILIZADOS

 DIAGNÓSTICO IN VITRO	 CÓDIGO N°	 LOTE N°	 ESTÉRIL
 ELABORADOR	 N° DE DETERMINACIONES	 INSTRUCCIONES DE USO	 FECHA DE VENCIMIENTO
			 LÍMITE DE TEMPERATURA