



Blood Agar Base

Non-selective medium for the isolation and cultivation of many pathogenic and non-pathogenic microorganisms.

DESCRIPTION

Blood Agar Base is a general purpose medium which may be enriched with blood or serum to support the growth of a wide variety of fastidious organisms of clinical significance.

With added blood, this medium is specially designed for the determination of typical hemolytic reactions which are important differentiating criteria for streptococci, staphylococci, and other organisms.

Blood Agar Base may be employed without adding blood as a nutrient agar or as a medium for the short-term maintenance of stock cultures.

TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Tryptose	10.0
Meat Extract	10.0
Sodium Chloride	5.0
Agar	15.0
Final pH 7.3 ± 0.2 at 25°C	

METHOD PRINCIPLE

Tryptose and meat extract provide amino acids, nitrogen, carbon, vitamins and minerals for organisms growth. Sodium chloride maintains the osmotic balance of the medium. Agar is the solidifying agent.

PREPARATION

<u>Dehydrated medium</u>	Suspend 40 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat to boil shaking frequently until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes.
<u>Medium in bottles</u>	Melt the content of the bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

For blood agar, add 5-10% sterile defibrinated sheep (ref. 83394) or horse (ref. 83294) blood to the Base cooled at 45-50°C after sterilization. Mix with gentle rotation and pour into petri dishes or other containers.

Boiled blood agar (chocolate agar) is prepared by heating after adding the blood. Heat the culture medium for about 10 minutes at approx. 80°C with frequent swirling until it turns brownish. Chocolate agar supplemented with 10% defibrinated blood is suited for isolating *Haemophilus* and *Neisseria* species.

For the selective isolation of tubercle bacilli the addition of 1% glycerol and 25% human blood is recommended.

TEST PROCEDURE

Process each specimen as appropriate, and inoculate over the agar surface. Streak for isolation with an inoculating loop, then stab the agar several times to deposit beta-hemolytic streptococci beneath the agar surface. Subsurface growth will display the most reliable hemolytic reactions demonstrating both oxygen-stable and oxygen-labile streptolysins. Incubate plates aerobically, anaerobically or under CO₂ enriched atmosphere in accordance with established laboratory procedures.

INTERPRETING RESULTS

Examine plates for growth and hemolytic reactions after 18-48 hours of incubation. Four different types of hemolysis on blood agar media can be described:

1. Alpha (α)-hemolysis is the reduction of hemoglobin to methemoglobin in the medium surrounding the colony, causing a greenish discolorization of the medium.
2. Beta (β)-hemolysis is the lysis of red blood cells, resulting in a clear zone surrounding the colony.
3. Gamma (γ)-hemolysis indicates no hemolysis. No destruction of red blood cells occurs, and there is no change in the medium.
4. Alpha-prime (α')-hemolysis is a small zone of complete hemolysis that is surrounded by an area of partial lysis.

The haemolytic reactions of organisms inoculated on to this medium will be affected by the animal blood used e.g. horse or sheep and the incubation conditions e.g. aerobic, capnoeic or anaerobic. When horse blood is added to the medium *Haemophilus haemolyticus* colonies will produce beta-haemolysis and mimic *Streptococcus pyogenes*.

APPEARANCE

Dehydrated medium: free-flowing, homogeneous, light beige.

Prepared medium: before adding blood, clear and yellowish-brown, then cherry red.

STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store bottles at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.

Medium in bottles: 2 years.

QUALITY CONTROL

Plates are inoculated with the microbial strains indicated in the QC table.

Inoculum for productivity: 10-100 CFU.

Incubation conditions: 35 ± 2°C for 18-24 hours in aerobic atmosphere supplemented with CO₂.

QC Table.

Microorganism		Growth	Hemolysis
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Good	Beta
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305	Good	Alpha
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Good	Beta
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Good	---

WARNING AND PRECAUTIONS

The product does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. The product is intended for *In vitro* diagnostic use and must be used only by properly trained operators.

DISPOSAL OF WASTE

Disposal of waste must be carried out according to national and local regulations in force.








BIBLIOGRAPHY

1. Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Media (2004) - 3rd ed. M22-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (NCCLS), Wayne, PA.
2. Ruoff, Whiley and Beighton. (1999). In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Isenberg (ed).1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Facklam R. R. (1980) in Manual of Clinical Microbiology. Eds. Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. & Truant J. P. 3rd Edn. Amer. Soc. for Microbiology. Washington D.C. pp. 88-110.
5. M.S. Tarshis, A.W. Frisch (1951) Blood media for the cultivation of Mycobacterium tuberculosis, Amer. J. Clin. Pathol., 21:101.

PRESENTATION

PRESENTATION		Contents	Ref.
Blood Agar Base	Bottles	6 x 500 ml bottles	470130
Blood Agar Base	Bottles	6 x 100 ml bottles	402140
Blood Agar Base	Dehydrated medium	500 g of powder	610005
Blood Agar Base	Dehydrated medium	100 g of powder	620005

TABLE OF SYMBOLS

LOT Batch code	IVD <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Manufacturer	 Use by	 Fragile, handle with care
REF Catalogue number	 Temperature limitation	 Contains sufficient for <n> tests	 Caution, consult Instruction For Use	 Do not reuse



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net





Blood Agar Base

Terreno non selettivo per l'isolamento e la coltivazione di molti microrganismi patogeni e non patogeni.

DESCRIZIONE

Blood Agar Base è un terreno multiuso che può essere arricchito con sangue o siero per supportare la crescita di un'ampia varietà di microrganismi esigenti di importanza clinica.

Con l'aggiunta di sangue, questo terreno è particolarmente adatto alla determinazione delle tipiche reazioni emolitiche, importanti come criteri interpretativi per il differenziamento di streptococchi, stafilococchi ed altri microrganismi.

Blood Agar Base può essere impiegato senza l'aggiunta di sangue come agar nutriente o come terreno per il mantenimento a breve termine delle colture microbiche.

FORMULA TIPICA

	(g/l)
Triptosio	10.0
Estratto di Carne	10.0
Sodio Cloruro	5.0
Agar	15.0

pH Finale 7.3 ± 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL METODO

Triptosio ed estratto di carne forniscono aminoacidi, azoto, carbonio, vitamine e minerali per la crescita degli organismi. Il sodio cloruro mantiene il bilancio osmotico del terreno. L'agar è l'agente solidificante.

PREPARAZIONE

<u>Terreno disidratato</u>	Sospendere 40 g di polvere in 1 litro di acqua distillata o deionizzata sterile. Mescolare bene. Riscaldare agitando di frequente e bollire fino a completa dissoluzione. Sterilizzare in autoclave a 121°C per 15 minuti.
<u>Terreno in flaconi</u>	Sciogliere il contenuto di un flacone in bagnomaria a 100°C (con i tappi leggermente svitati) fino a completa dissoluzione del terreno. Verificare, una volta fuso, la buona omogeneità del terreno capovolgendo il flacone dopo averne avvitato il tappo. Raffreddare a 45-50°C, mescolare bene senza formazione di bolle. Versare in piastre Petri in condizioni di asepsi.

Per l'agar al sangue, dopo la sterilizzazione aggiungere alla Base raffreddata a 45-50°C il 5-10% di sangue defibrinato sterile di montone (ref. 83394) o cavallo (ref. 83294).

L'agar cioccolato viene preparato riscaldando il terreno dopo aver aggiunto il sangue. Riscaldare per circa 10 minuti ad approssimativamente 80°C con frequente agitazione fino a che il terreno appare color cioccolato. Il terreno così preparato e supplementato con il 10% di sangue defibrinato è adatto per l'isolamento delle specie di *Haemophilus* e *Neisseria*.

Per l'isolamento selettivo dei bacilli tubercolari si raccomanda l'aggiunta di glicerolo all'1% e di sangue umano al 25%.

PROCEDURA DEL TEST

Processare il campione clinico come richiesto ed inoculare sulla superficie dell'agar. Strisciare per l'isolamento con un'ansa da inculo, quindi infilare più volte all'interno dell'agar per depositare gli streptococchi beta-emolitici. La crescita al di sotto della superficie del terreno assicura la massima affidabilità per le reazioni emolitiche mostrando sia le streptolisine instabili in presenza di ossigeno che quelle instabili.

Incubare le piastre in condizioni aerobiche, anaerobiche o in atmosfera arricchita con CO₂ secondo le procedure di laboratorio stabilite.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Esaminare la crescita sulle piastre e le reazioni emolitiche dopo 18-48 ore di incubazione. Si possono descrivere quattro tipi differenti di emolisi sui terreni agar al sangue:

1. L'alfa (α) emolisi consiste nella riduzione di emoglobina ad metaemoglobina nel terreno attorno alle colonie, che causa una decolorazione verdastra del terreno stesso.
2. La beta (β) emolisi è la lisi delle cellule rosse del sangue che provoca la formazione di una zona chiara attorno alle colonie.
3. Per gamma (γ) emolisi si intende assenza di emolisi. Non si verifica alcuna distruzione di eritrociti e non avviene alcun cambiamento nel colore del terreno.
4. L'alfa primo (α') emolisi consiste in una piccola zona di completa emolisi circondata da un'area di lisi parziale.

Le reazioni emolitiche dei microrganismi inoculati su questo terreno saranno condizionate dal tipo di sangue animale utilizzato, ad esempio cavallo o montone e dalle condizioni di incubazione ovvero, aerobica, arricchita con anidride carbonica o anaerobica. Quando al terreno viene aggiunto il sangue di cavallo, le colonie di *Haemophilus haemolyticus* producono beta emolisi mimando *Streptococcus pyogenes*.

ASPETTO

Terreno disidratato: omogeneo, fine granulometria, beige chiaro.

Terreno preparato: prima di aggiungere il sangue, chiaro e giallastro-marrone, poi rosso ciliegia.

CONSERVAZIONE

La polvere è fortemente igroscopica, conservare a 10-30°C, in ambiente asciutto, nel suo contenitore originale chiuso ermeticamente. Conservare i flaconi a 10-25°C al riparo dalla luce. Non usare il prodotto dopo la sua data di scadenza indicata sull'etichetta o se il prodotto mostra segni di contaminazione o deterioramento.

VALIDITÀ

Terreno disidratato: 4 anni.

Terreno in flaconi: 2 anni.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Le piastre vengono inoculate con i ceppi microbici indicati nella tabella CQ.

Inoculo per produttività: 10-100 UFC.

Condizioni di incubazione: 35 ± 2°C per 18-24 ore in atmosfera aerobica arricchita con CO₂.**Tabella CQ.**

Microrganismo		Crescita	Emolisi
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Buona	Beta
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305	Buona	Alfa
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Buona	Beta
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Buona	---

AVVERTENZE E PRECAUZIONI

Il prodotto non contiene sostanza nocive in concentrazioni superiori ai limiti fissati dall'attuale legislazione e perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il suo corretto uso. Il prodotto è da intendersi per uso diagnostico *in vitro* e deve essere utilizzato esclusivamente da operatori adeguatamente addestrati.

SMALTIMENTO DEI RIFIUTI









Lo smaltimento dei rifiuti deve essere effettuato in conformità alle normative nazionali e locali in vigore.

BIBLIOGRAFIA

1. Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Media (2004) - 3rd ed. M22-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (NCCLS), Wayne, PA.
2. Ruoff, Whiley and Beighton. (1999). In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Isenberg (ed).1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. Facklam R. R. (1980) in Manual of Clinical Microbiology. Eds. Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. & Tenover J. P. 3rd Edn. Amer. Soc. for Microbiology. Washington D.C. pp. 88-110.
5. M.S. Tarshis, A.W. Frisch (1951) Blood media for the cultivation of Mycobacterium tuberculosis, Amer. J. Clin. Pathol., 21:101.

PRESENTAZIONE		Contenuto	Ref.
Blood Agar Base	Flaconi	Flaconi 6 x 500 ml	470130
Blood Agar Base	Flaconi	Flaconi 6 x 100 ml	402140
Blood Agar Base	Terreno disidratato	500 g di polvere	610005
Blood Agar Base	Terreno disidratato	100 g di polvere	620005

TABELLA DEI SIMBOLI

LOT Codice del lotto	 Tenere al riparo dalla luce	 Fabbrikante	 Utilizzare entro	 Fragile, maneggiare con cura
REF Numero di catalogo	 Limiti di temperatura	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Attenzione, Consultare le istruzioni per l'uso	 Non riutilizzare

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy

Tel. +39 0858930745

Fax +39 0858930330

www.liofilchem.net

liofilchem@liofilchem.net



Blood Agar Base

Medio no selectivo para el aislamiento y cultivo de diferentes microorganismos patógenos y no patógenos.

DESCRIPCIÓN

Blood Agar Base es un agar para diferentes usos que puede ser enriquecido con sangre o suero para favorecer el crecimiento de una gran variedad de organismos exigentes de importancia clínica.

Cuando se añade sangre, este medio servirá para la determinación de reacciones típicas de hemólisis importantes para la diferenciación de estreptococos, estafilococos, y otros organismos.

El Blood Agar Base también se puede utilizar sin necesidad de añadir sangre como un agar nutritivo o como un medio para el mantenimiento de cultivos a corto plazo.

FÓRMULA (g/l)

Triptosa	10.0
Extracto de Carne	10.0
Cloruro Sódico	5.0
Agar	15.0

pH 7.3 Final \pm 0.2 a 25°C

PRINCIPIO DEL MÉTODO

La triptosa y el extracto de carne proporcionan aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. El Cloruro de Sodio mantiene el equilibrio osmótico del medio. El Agar es el agente solidificante.

PREPARACIÓN

Medio deshidratado Suspender 40 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

Medio en botellas Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, girar la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfriar a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

Para agar sangre, añadir 5-10% de sangre estéril desfibrinada de oveja (ref. 83394) o caballo (ref. 83294) a la Base enfiada a 45-50°C después de ser esterilizada. Mezclar rotando ligeramente y versar en las placas Petri o recipiente.

Agar sangre hervido (agar chocolate) se prepara calentando después de haber añadido la sangre. Calentar el medio de cultivo durante 10 minutos a 80°C removiendo de vez en cuando hasta que el color pase a ser marrón. El uso del agar Chocolate con suplemento de sangre desfibrinada al 10% está recomendado para el aislamiento de especies de *Haemophilus* y *Neisseria*.

Para un aislamiento selectivo de *M. tuberculosis* se recomienda añadir sangre humana al 25 % con un 1 % de glicerol.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

Procesar adecuadamente cada muestra e inocular en la superficie agarizada. Sembrar por estriación con un asa repetidamente para permitir el depósito de los estreptococos beta-hemolíticos sobre la superficie agarizada. El crecimiento bajo la superficie mostrará las reacciones hemolíticas evidenciando a la par estreptolisinas lábiles al oxígeno y estreptolisinas estables al oxígeno.

Incubar las placas en condiciones de aerobiosis, anaerobiosis ó en atmósfera enriquecida de CO₂, según los procedimientos establecidos de laboratorio.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Examinar el crecimiento en las placas y las reacciones hemolíticas después de 18-48 horas de incubación. Se pueden encontrar cuatro tipos diferentes de hemólisis en el agar sangre:

1. Alfa (α)-hemólisis: es la reducción de la hemoglobina a metahemoglobina en el medio que rodea a la colonia, ocasionando una descolorización verde del medio.
2. Beta (β)-hemólisis: es la lisis de los glóbulos rojos, produciendo una zona clara que rodea a la colonia.
3. Hemólisis Gamma (γ): indica que no se ha producido hemólisis. No destruction of red blood cells occurshabido destrucción de los glóbulos rojos y el medio permanece inalterado.
4. Hemólisis Alfa-primaria (α): hay una pequeña zona de hemólisis completa rodeada de una zona de lisis parcial.

Las reacciones hemolíticas de los organismos inoculados en este medio estarán influenciadas por el tipo de sangre animal empleada (caballo u oveja), y por las condiciones de incubación (aeróbicas o anaeróbicas). Cuando se emplea sangre de caballo las colonias de *Haemophilus haemolyticus* producirán beta-hemólisis imitando *Streptococcus pyogenes*.

ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige claro.

Medio preparado: antes de añadir la sangre, claro y marrón – Amarillo, después de la adición, rojo cereza.

ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar las botellas a 10-25°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

SHELF LIFE

Medio deshidratado: 4 años.
Medio en botellas: 2 años.

CONTROL DE CALIDAD

Las placas se inoculan con las cepas indicadas en la siguiente tabla.
Inóculo para productividad: 10-100 CFU
Condiciones de incubación: aeróbicas a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 18-24 horas con suplemento de CO_2 .

Tabla QC.

Microorganismo		Crecimiento	Hemolisis
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC® 19615	Bueno	Beta
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC® 6305	Bueno	Alfa
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC® 25923	Bueno	Beta
<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	Bueno	---

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Este producto no contiene sustancias peligrosas en concentraciones que excedan los límites fijados por la legislación actual y no está clasificado como peligroso. Se recomienda de todas formas la lectura de la hoja de seguridad para el uso apropiado. El producto está pensado para un uso exclusivo de diagnóstico *in vitro* y debe ser utilizado sólo por operadores debidamente adiestrados.

DESECHO DE RESÍDUOS

El desecho de los residuos debe realizarse según la regulación nacional y local vigente.








BIBLIOGRAFÍA

- Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Media (2004) - 3rd ed. M22-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI (NCCLS), Wayne, PA.
- Ruoff, Whiley and Beighton. (1999). In Murray, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Isenberg (ed). 1992. Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Facklam R. R. (1980) in Manual of Clinical Microbiology. Eds. Lennette E. H., Balows A., Hausler W. J. & Tenover J. P. 3rd Edn. Amer. Soc. for Microbiology. Washington D.C. pp. 88-110.
- M.S. Tarshis, A.W. Frisch (1951) Blood media for the cultivation of Mycobacterium tuberculosis, Amer. J. Clin. Pathol., 21:101.

PRESENTACIÓN

		Contenido	Ref.
Blood Agar Base	Botellas	6 x 500 ml botellas	470130
Blood Agar Base	Botellas	6 x 100 ml botellas	402140
Blood Agar Base	Medio deshidratado	500 g de polvo deshidratado	610005
Blood Agar Base	Medio deshidratado	100 g de polvo deshidratado	620005

TABLA DE SÍMBOLOS

LOT Código de lote	IVD Sistema medico para el Diagnóstico <i>In vitro</i>	 Fabricante	 Utilizar antes de	 Frágil, manipular con cuidado
REF Número de catálogo	 Límites de temperatura	 Contenido suficiente para <n> análisis	 Atención, consultar el documento adjunto	 No reutilizar

**LIOFILCHEM® s.r.l.**

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.net liofilchem@liofilchem.net

