

Evaluación de la sangre ovina como suplemento nutritivo en medios de cultivo: citratada y desfibrinada

Evaluation of sheep blood as nutritive supplement in culture media:
citratated and defibrinated

Ing. Alejandro Vladimir Chacón Martén^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-2305-6587>

¹Laboratorios de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales. Santiago de Cuba, Cuba.

*Autor para la correspondencia. Correo electrónico: avchmrtn@gmail.com

RESUMEN

Introducción: La sangre ovina constituye un suplemento esencial en la elaboración de medios de cultivo, dado que aporta factores nutricionales indispensables para el crecimiento y la recuperación de diversos microorganismos.

Objetivo: Evaluar comparativamente el efecto de la sangre ovina, tanto citratada como desfibrinada, en medios de cultivo de base agar en cuanto al crecimiento bacteriano y la producción de hemólisis de cepas de referencia de diferentes bacterias patógenas, así como la recuperación o el aislamiento de microorganismos de muestras clínicas.

Métodos: Se realizó un estudio observacional, descriptivo y transversal en 6 laboratorios de microbiología de la ciudad de Santiago de Cuba durante el año 2017, en los cuales se empleó sangre de ovinos de la raza pelibuey, para la elaboración de medios de cultivo. A cada laboratorio se le suministró tanto sangre citratada como desfibrinada y se le entregó una encuesta para valorar los resultados.

Resultados: Existió un mejor crecimiento y aislamiento bacteriano en el medio suplementado con sangre desfibrinada, a pesar de que el rendimiento o los resultados en el caso de la sangre citratada resultaron satisfactorios.

Conclusiones: Se confirmó la pertinencia del uso de la sangre desfibrinada como suplemento de enriquecimiento nutritivo en medios de cultivo; no obstante, quedó demostrada la utilidad de la sangre citratada en la labor de rutina del laboratorio de microbiología clínica.

Palabras clave: sangre ovina citratada; sangre ovina desfibrinada; crecimiento bacteriano; hemólisis; aislamiento bacteriano.

ABSTRACT

Introduction: Sheep blood is an essential supplement in the elaboration of culture media, as it provides important nutritional factors for the growth and recovery of different organisms.

Objective: To evaluate comparatively the effect of sheep citrated and defibrinated sheep blood in culture media with agar base as for the bacterial growth and the production of hemolysis in reference strains from different pathogen bacteria, as well as the recovery or isolation of microorganisms from clinical samples.

Method: An observational, descriptive and cross-sectional was carried out in 6 microbiology laboratories in Santiago de Cuba city during 2017, in which male sheeps blood from the pelibuey breed for elaborating culture media. Each laboratory received either citrated blood or defibrinated and a survey was delivered to evaluate the results.

Results: There was a better growing and bacterial isolation in the media supplemented with defibrinated blood, although yielding or results were favorable with citrated blood.

Conclusions: The pertinence of the use of defibrinated blood as a supplement of nutritive enrichment in culture media was confirmed; however, the use of citrated blood was demonstrated in the routine work of the clinical microbiology laboratory.

Key words: sheep citrated blood; sheep dehidratated blood; bacterial growth; hemolysis, bacterial isolation.

Recibido: 19/11/2020

Aprobado: 12/03/2021

Introducción

La sangre de algunas especies de animales (bovina, equina, ovino-caprina, porcina, aviar y cunícola) constituye un ingrediente biológico de suma importancia como suplemento nutritivo para la preparación de medios de cultivo de base agar (agar sangre) con fines diagnósticos en los laboratorios de microbiología, pues aporta factores de crecimiento indispensables en el desarrollo y la identificación de un gran número de bacterias, incluidas aquellas con determinados requerimientos desde el punto de vista nutricional, que se encuentran fundamentalmente en muestras clínicas.

Resulta oportuno referir que la sangre desfibrinada y estéril de diversos animales se ha utilizado desde el siglo XIX para enriquecer el cultivo de diversas bacterias patógenas. El agar sangre, como se denomina hoy día, fue introducido por primera vez en Francia en 1903, por Bezançon y Griffon. Posteriormente, en 1919, Brown demostró la exactitud de la sangre ovina para clasificar al género *Streptococcus* según el tipo de hemólisis.⁽¹⁾

Las sangres más usadas como ingredientes de medios de cultivo de base agar son la ovina y la equina. La primera es recomendada por las normas internacionales como el suplemento más eficiente para el trabajo habitual de diagnóstico en laboratorios de microbiología, de modo que se considera como el método de referencia (*gold standard*) para definir las reacciones hemolíticas del *Streptococcus pyogenes* (*Streptococcus* beta hemolítico), ya que permite una mejor visualización de la hemólisis en 24 horas, a pesar de la existencia del test de detección de antígenos que aporta rapidez al resultado.^(2,3)

En correspondencia con los planteamientos anteriores, el agar sangre de carnero es considerado un medio de cultivo universal y, a la vez, no selectivo, pues posibilita el crecimiento de una amplia variedad de microorganismos; además, este se clasifica como un método de diagnóstico directo, por lo cual es muy usado en los laboratorios de microbiología clínica de muchos países.

La amplia utilización de la sangre de carnero en el diagnóstico microbiológico *in vitro* se debe, además, a sus características físicas casi idénticas a la sangre humana;⁽¹⁾ esta última es precisamente la que más se estudia en medios de cultivo de base agar, donde la sangre de carnero es un componente importante para identificar el agente causal de alguna enfermedad.

Cabe señalar que la sangre de carnero también se usa como fuente de hematíes en los laboratorios de inmunología para la realización de diferentes técnicas diagnósticas.

De igual modo, la comprobada utilidad de esta sangre en laboratorios de microbiología clínica se fundamenta en el hecho de que la membrana celular de los pequeños eritrocitos de carnero es muy susceptible a la acción de las hemolisinas bacterianas. Esto es especialmente categórico en el caso de las estreptolisinas O y S del *Streptococcus pyogenes* (estreptococo beta hemolítico). Dicha característica, aunada a su fragilidad ligeramente mayor en comparación con los eritrocitos humanos, hace que estas células ovinas sean excelentes indicadores de la hemólisis *in vitro*;⁽¹⁾ criterio básico para orientar en la identificación bacteriana, que se basa en los halos de hemólisis que estas células producen (alfa, beta o gamma).

Por otra parte, la sangre equina como componente de medios de cultivo de base agar se prefiere para el aislamiento de la *Haemophilus influenzae*, considerando que en un medio común con agar sangre de carnero la *H. influenzae* y otros serotipos de *Haemophilus* no pueden crecer porque necesitan los factores X (hemina) y V (NAD) que proporcionan los glóbulos rojos equinos en específico.⁽⁴⁾ Sin embargo, estos factores intraeritrocitarios no están disponibles para los referidos microorganismos, los cuales, a diferencia de otros, no producen enzimas capaces de romper la estructura de la membrana citoplasmática de los hematíes (hemolisinas), de manera que requieren que estos factores estén a su disposición para que favorezcan su crecimiento.

El medio de cultivo ideal creado para este propósito es el agar chocolate,⁽⁵⁾ que está compuesto por una base de agar rico en nutrientes y sangre calentada suavemente a 56 grados Celsius, lo que propicia la hemólisis de los hematíes y que la hemina y el NAD (siglas en inglés de dinucleótido de nicotinamida y adenina) estén disponibles para las bacterias mencionadas.

Actualmente los laboratorios de microbiología del Sistema Nacional de Salud cubano emplean casi exclusivamente la sangre ovina anticoagulada estéril (sangre ovina citratada) como suplemento nutritivo para los medios de cultivo de base agar, por las bondades de este tipo de sangre —expuestas con anterioridad— y por la disponibilidad de este mamífero en Cuba, si se compara con la especie equina.

La sangre ovina citratada es colectada asépticamente en bolsas plásticas de extracción de sangre, las cuales contienen en su interior la solución anticoagulante CPD (citrate, fosfato y dextrosa). Cabe referir que el citrato de sodio presente en su composición se encuentra en una concentración tan baja (0,3 %), que no limita o interfiere el crecimiento bacteriano, lo que confirma lo factible que viene resultando hasta el presente el empleo de este tipo de sangre en la rutina de trabajo de los laboratorios de microbiología.

Lo anterior fue demostrado por Rosner⁽⁶⁾ en la década de los 60 del pasado siglo, quien utilizó medios de cultivo con una concentración final de citrato de sodio a 1,4 % y de polianetol sulfonato de sodio a 0,03 %, y encontró 50 % menos de aislamiento para las bacterias grampositivas en el medio con citrato de sodio en comparación con el otro medio de cultivo. Otro investigador, Evans,⁽⁷⁾ en ese mismo período informó una drástica inhibición de *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* en hemocultivos experimentales con citrato de sodio a 1 %. Luego, en la década de los 80, Núñez *et al*,⁽⁸⁾ del Instituto de Microbiología Clínica perteneciente a la Facultad de Medicina de la Universidad Austral de Chile, demostraron que el citrato de sodio en una concentración a 0,1 % en un medio de cultivo enriquecido con sangre de carnero no manifestaba un efecto inhibitorio sobre las bacterias allí cultivadas, pero tampoco perdía su efecto anticoagulante.

Más recientemente, Rusell *et al*,⁽⁹⁾ así como un equipo de investigadores norteamericanos liderados por Yeh,⁽¹⁰⁾ reafirmaron la conveniencia del uso de sangre ovina citratada en naciones en vías de desarrollo como alternativa de enriquecimiento para los medios de cultivo de base agar, debido a los riesgos de transmisión de enfermedades virales que implica el empleo de la sangre humana para el personal que la manipula, así como por sus efectos inhibitorios para el crecimiento bacteriano si en esta existen trazas de antibióticos y/o anticuerpos.⁽¹¹⁾

En Cuba, a diferencia de otros países, la sangre ovina desfibrinada estéril tiene un uso mucho más limitado en el laboratorio de microbiología. Dicha sangre es obtenida en un ambiente aséptico después de un proceso de agitación durante su colección, gracias a lo cual se logra privarla totalmente de la fibrina; proteína fibrilar que estimula la coagulación sanguínea.

Hoy día los métodos para desfibrinar sangre que se describen en el mundo son mecánicos y basan su principio de funcionamiento en la agitación, lo cual se realiza de modo manual, empleando perlas o bolas de vidrio de diferente tamaño, cuando se necesitan pequeños volúmenes de sangre de esta calidad en laboratorios,⁽¹⁰⁾ o mediante el uso de dispositivos, como los electromecánicos (por ejemplo, los agitadores magnéticos), para la obtención de volúmenes en gran escala.⁽⁹⁾

En casi todos los laboratorios de microbiología de Cuba, la sangre ovina citratada tiene un lugar esencial porque ha demostrado su utilidad diagnóstica; no obstante, algunos laboratorios en la provincia de La Habana solo emplean la sangre ovina desfibrinada. A nivel internacional, si el diagnóstico microbiológico no se realiza con el auxilio de técnicas de biología molecular —por ejemplo, la tecnología de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés)—,⁽¹²⁾ por las ventajas que ofrecen en cuanto a rapidez y elevadas precisión y fiabilidad de los resultados, entonces se recurre, en dependencia de la muestra clínica, al empleo de un medio de cultivo cuyo suplemento nutritivo sea algún tipo de sangre animal desfibrinada, que por lo general ha de ser la ovina; el término usado comúnmente es “de carnero”, que designa a los animales jóvenes de esta especie. Se aconseja el uso de la sangre desfibrinada por sus cualidades y porque no contempla en su composición ningún aditivo o preservativo, por lo que propicia la realización de estudios microbiológicos de mayor calidad, mejorando la eficiencia del diagnóstico.

Asimismo, debe resaltarse que en la carpeta de productos de los Laboratorios de Anticuerpos y Biomodelos Experimentales (LABEX), institución científico-productiva adscrita al Centro de Inmunología Molecular, figura el hemovin (sangre ovina citratada), el cual se produce y comercializa para el territorio santiaguero y la vecina provincia de Guantánamo; a la misma vez, se ha iniciado, de manera experimental, la obtención de pequeños lotes de sangre ovina desfibrinada estéril, con vistas a la implementación o el desarrollo de una tecnología que permita tener a punto un nuevo producto en un futuro próximo.

Tomando en cuenta los argumentos que preceden, se decidió realizar el presente estudio de carácter preliminar.

Métodos

Se llevó a cabo una investigación observacional, descriptiva y transversal en 6 laboratorios de microbiología pertenecientes a igual número hospitales de la ciudad de Santiago de Cuba, durante marzo del año 2017, con el fin de evaluar comparativamente el efecto de la sangre ovina, tanto citratada como desfibrinada, en medios de cultivo de base agar en cuanto al crecimiento bacteriano y la producción de hemólisis de cepas ATCC (*American type culture collection*)⁽¹³⁾ de diferentes bacterias patógenas, así como la recuperación o el aislamiento de microorganismos provenientes de muestras de origen clínico.

Para ello, se utilizó la sangre de tres de ovinos machos de la raza pelibuey, de tres años y medio de edad y peso corporal que oscilaba entre 40 y 45 kg, pertenecientes al bioterio (área de animales convencionales) de LABEX, los cuales gozaban de buena salud y recibían una inspección periódica de su condición sanitaria.

Las manipulaciones a que fueron sometidos durante el proceso de extracción de sangre, se realizaron de acuerdo a las normas éticas y de bienestar animal, cumpliendo con el principio de las 3R⁽¹⁴⁾ del refinamiento, válido para los animales de laboratorio, con lo cual se tiende a minimizar al máximo el sufrimiento o estrés que experimentan estos biomodelos durante el procedimiento, aunque ya estén adaptados.

Previo al procedimiento, se rasuró y desinfectó la piel del animal con solución de etanol a 70 % y posteriormente se tomó una muestra de 4 mL de sangre, con el objetivo de realizar una determinación de valores de hemoglobina (Hb)⁽¹⁵⁾ en el autoanalizador hematológico del Hospital General Docente Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso.

Del mismo biomodelo donante se obtuvieron, de manera aséptica, por punción de la vena yugular, 400 mL de sangre. Los primeros 200 mL se destinaron a producir el hemovin; es decir, se logró la anticoagulación con la solución CPDA-1, contenida en la bolsa plástica primaria destinada para la colección del flujo sanguíneo.

La formulación de la solución anticoagulante CPDA-1⁽¹⁶⁾ en 63 mL es la siguiente: 1,66 g de citrato de sodio, 0,188 g de ácido cítrico, 2,00 g de dextrosa, 140 g de fosfato de sodio y 0,0173 g de adenina.

Se tuvo en cuenta la proporción anticoagulante-sangre indicada por el fabricante: 63 mL de CPDA-1 para 450 mL de sangre (proporción de 1,4:10). En este caso se utilizaron 28 mL para la anticoagulación de la cantidad especificada, previamente vertidos en flujo laminar en el matraz de Erlenmeyer, donde se colectó directamente la sangre.

La sangre citratada se obtuvo al homogenizar el fluido con la solución anticoagulante, mediante movimientos giratorios constantes a medida que se vertía en el erlenmeyer.

Los restantes 200 mL de sangre fueron desfibrinados de manera manual, a medida que ocurría la donación y la sangre se colectaba en otro erlenmeyer estéril con bolas de vidrio dentro de 16 mm de diámetro, el cual se hacía girar continuamente. En cada caso, el proceso de agitación manual para lograr la desfibrinación tuvo una duración aproximada de 10 minutos; sin embargo, en tan solo 3 minutos se pudo acopiar la cantidad de sangre prevista.

Luego de realizados estos procedimientos en el área del bioterio, se comenzó a trabajar en el flujo laminar, donde se separó la fibrina de la sangre y ambas fueron envasadas (fig.). Se tomaron, además, muestras de los dos tipos de sangre para medir la hemoglobina, antes de ser envasada cada una en su correspondiente bolsita plástica. Este procedimiento se practicó tres veces; es decir, por cada animal donante.



Fig. Sangre citratada y sangre desfibrinada envasadas en bolsitas plásticas de 100 mL en el flujo laminar. Se observa la fibrina en el erlenmeyer, una vez que fue separada de la sangre.

Se distribuyeron, por los laboratorios de microbiología de diferentes hospitales de la ciudad, las bolsitas plásticas de 100 mL de hemovin y de sangre desfibrinada. Se dispuso suministrar a cada laboratorio la sangre proveniente del mismo biomodelo animal, tanto la citratada como la desfibrinada, para el propósito propuesto, y en cada caso se añadió a la base agar la cantidad de 7 % del volumen total, en correspondencia con la norma cubana.

El objetivo fue observar el crecimiento y evaluar las reacciones de hemólisis de cepas ATCC de diferentes bacterias patógenas, que se manifestaron en cada placa (con cada tipo de sangre); de igual forma, recuperar o aislar microorganismos provenientes de muestras de origen clínico, para así establecer comparaciones y demostrar la eficiencia de cada tipo de sangre en el diagnóstico microbiológico *in vitro*, en su respectivo medio de cultivo.

A tal efecto, se utilizaron cepas ATCC de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Streptococcus viridans*, así como una cepa salvaje de *Streptococcus* beta hemolítico. No se emplearon las mismas bacterias en todos los laboratorios.

En cada laboratorio las muestras se sembraron indistintamente mediante hisopado en placas con agar sangre desfibrinada y hemovin. De la misma forma, se sembraron las muestras procedentes de diferentes tipos de exudado.

A fin de obtener la información necesaria para el estudio, se hizo circular una encuesta por los laboratorios de microbiología de los seis hospitales que se relacionan seguidamente:

- a. Hospital Provincial Docente Clínico-Quirúrgico Saturnino Lora
- b. Hospital Infantil Docente Norte Dr. Juan de la Cruz Martínez Maceira
- c. Hospital Infantil Docente Sur Dr. Antonio María Béguez César
- d. Hospital General Docente Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso
- e. Hospital Ginecoobstétrico Docente Tamara Bunke Bíder
- f. Laboratorio Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología

Resultados

En la tabla 1 se exhiben los valores de hemoglobina de cada uno de los biomodelos en el momento de la flebotomía, así como de los productos obtenidos a partir de la sangre. Los biomodelos donantes se representan enmarcados en un rectángulo.

Tabla 1. Valores de hemoglobina de los animales y de cada producto

Laboratorio	Valores de hemoglobina (g/L)		
	Biomodelo	Hemovin	Sangre desfibrinada
a	11,8	9,2	11,0
b	11,8	9,2	11,0
c	12,3	9	11,2
d	12,3	9	11,2
e	13,8	10,1	9,7
f	13,8	10,1	9,7

Las reacciones de hemólisis tuvieron una mejor expresión en las placas con sangre desfibrinada, tal y como se observa en la tabla 2.

Tabla 2. Evaluación de las reacciones de hemólisis en placas con medios de cultivo enriquecidos con hemovin y con sangre desfibrinada

Evaluación de las reacciones de hemólisis en placas de agar con cepas ATCC		
Valor	Sangre desfibrinada (No. de laboratorios)	Hemovin (No. de laboratorios)
Superior	3 (a, b y c)	
Ligeramente superior	1 (d)	
Igual	2 (e y f)	2 (e y f)

Se evidenció un mejor aislamiento en las placas donde la sangre desfibrinada constituyó el suplemento nutritivo (tabla 3); del mismo modo, en dos laboratorios resultó igual la manifestación de las bacterias en cuanto a su aislamiento o recuperación en ambos tipos de placas.

Tabla 3. Evaluación de aislamientos obtenidos en placas con medios de cultivo enriquecidos con hemovín y con sangre desfibrinada

Evaluación del aislamiento de bacterias provenientes de exudados		
Valor	Sangre desfibrinada (No. de laboratorios)	Hemovín (No. de laboratorios)
Superior	3 (a, b y c)	
Ligeramente superior	1 (d)	
Igual	2 (e y f)	2 (e y f)

En sentido general, la calidad de ambos tipos de sangre fue calificada de buena en los 6 laboratorios, excepto en dos de ellos donde la sangre desfibrinada recibió una valoración de regular. No se encontró contaminación en ninguna de las bolsitas distribuidas.

Discusión

Los valores de hemoglobina, tanto de los biomodelos en el momento de la donación como de los productos obtenidos de sus sangres, fueron los primeros datos examinados en esta investigación. La diferencia en dichos valores para cada producto estuvo determinada por la presencia de la solución anticoagulante, que llevó a una dilución de la sangre, con la consiguiente disminución de la concentración de glóbulos rojos, aunque no a niveles significativos; no obstante, sí difirió respecto al mismo valor estudiado de la del otro suplemento nutritivo, que era sangre privada tan solo de la fibrina.

La hemoglobina es una variable de suma importancia en este estudio; en primer lugar, determina si el animal está en condiciones para donar, pues si su valor es inferior a 8 gramos por litro, este no estará apto para someterlo al procedimiento; de hecho, para la flebotomía se recomiendan ovinos con Hb superior a 10 g/L, de lo contrario, se vería afectada su salud y, por consiguiente, su bienestar. En segundo lugar, también determina la calidad de la sangre desfibrinada y del hemovín; existe una relación directamente proporcional entre los valores de Hb del biomodelo y la de los productos que se obtienen de su sangre.

De acuerdo con el control de calidad establecido en LABEX para el hemovin, este es rechazado si se comprueba que el producto tiene una Hb inferior a 9 g/L. Lo anterior se justifica en la interrelación existente entre el nivel de Hb de este suplemento y la observación de las reacciones de hemólisis en placa, de lo cual se infiere que si la Hb es baja, en correspondencia, la expresión de la hemólisis será pobre o nula, lo cual puede traer aparejada una falsa interpretación de los resultados. Ello sucede porque no se puede visibilizar la hemólisis o esta se encuentra disminuida en un medio donde el conteo de eritrocitos es bajo, dado que estos constituyen la diana de acción de las enzimas hemolíticas de las bacterias cuyos metabolismos se desarrollan en la base agar. Tal hecho también ocurre cuando hay inhibición de la flora bacteriana como consecuencia del exceso de citratos en el medio;^(7,8) efecto de una sangre citratada donde la proporción del anticoagulante supera la recomendación del fabricante de la bolsa de extracción para la flebotomía.

En este estudio, para obtener la sangre citratada se empleó una proporción de solución anticoagulante-sangre igual a la referida por Yeh *et al*,⁽¹⁰⁾ y similar a la expresada por dos Santos Dias *et al*,⁽¹⁷⁾ quienes en su investigación alimentaron artificialmente mosquitos *Aedes aegypti* con sangre cunícola y ovina citratada. Independientemente de que el trabajo de estos últimos científicos no haya estado relacionado con la bacteriología, vale la pena destacar que mientras más baja sea la relación entre citrato de sodio (como anticoagulante) y sangre, mejor expresión (visualización) *in vitro* tendrán las reacciones de hemólisis.⁽¹⁸⁾

En las placas de agar sangre desfibrinada, los microorganismos cultivados tienen mayor disponibilidad de hematíes para realizar su actividad hemolítica, si se compara con las placas de agar donde el hemovin constituye el suplemento nutritivo; en este caso, existe una menor concentración de células rojas, lo que determina, por consiguiente, una menor expresión de hemólisis alrededor de las colonias de bacterias que crecen en este medio. Como ya se refirió anteriormente, la disminución de la concentración de hematíes se debe a que la sangre se encuentra en cierto grado diluida por la solución que evita su coagulación.

Respecto al resultado específico con el *S. pyogenes*, coincidió con el de Russell *et al*,⁽⁹⁾ quienes compararon el efecto de la sangre humana y ovina citratada con la equina y

ovina desfibrinada, como componentes de medios de cultivo de base agar para el aislamiento, el crecimiento y la susceptibilidad antibiótica de diferentes cepas de bacterias de referencia (ATCC) y otras obtenidas de muestras clínicas. Particularmente las reacciones de hemólisis de esta bacteria fueron más evidentes en la sangre desfibrinada de las especies antes mencionadas.

Igualmente, fueron valoradas las reacciones de hemólisis observadas en ambos tipos de placas en el laboratorio del Hospital Ginecobstétrico Docente Tamara Bunke Bíder y en el Laboratorio Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología, porque a estos llegó sangre desfibrinada con pequeños coágulos, indicativo de un proceso de desfibrinación no bien logrado, probablemente por la agitación incorrecta de la sangre o por el tamaño de las bolas de vidrio. El coágulo sanguíneo se produce por la acción de la fibrina que forma redes tridimensionales donde son atrapados elementos formes presentes en este fluido, del cual los hematíes son la porción mayoritaria;⁽¹⁹⁾ dichas células, referente al tema en cuestión, al involucrarse en mayor porcentaje en este proceso disminuyeron su concentración, por lo cual la hemólisis observada fue similar tanto en la placa con hemovin como en la placa con sangre desfibrinada.

Tal resultado concordó con el de Yeh *et al*,⁽¹⁰⁾ quienes evaluaron la sangre ovina, citratada y desfibrinada, como medio de diagnóstico microbiológico, no solo en lo concerniente a la manifestación de la hemólisis, sino además en la observación de la morfología de las colonias y el crecimiento, en ambos medios, de diversas bacterias patógenas para el hombre.

Rusell *et al*⁽⁹⁾ también describen una similitud en el crecimiento bacteriano de cepas ATCC de *S. aureus* en placas de agar suplementadas con diferentes tipos de sangre de origen animal y humana, e igual manifestación del *S. pyogenes*, incluso en cepas de origen clínico.

En la presente investigación existieron evidencias de un mejor aislamiento en las placas donde la sangre desfibrinada constituyó el suplemento nutritivo; del mismo modo, en dos laboratorios la manifestación de las bacterias al ser aisladas resultó ser similar en ambos tipos de placas por la razón anteriormente referida.

Más recientemente, un grupo de científicos de la Universidad de Lagos, Nigeria, liderado por Egwuatu,⁽²⁰⁾ demostraron la factibilidad del uso de la sangre ovina para el

aislamiento de diferentes bacterias patógenas; su estudio fue más amplio, ya que incluyó otras especies animales no utilizadas en investigaciones citadas en este trabajo, aunque sí se siguieron los mismos parámetros. Asimismo, señalaron mejores resultados con el empleo de la sangre ovina en medios de cultivo de base agar.

Finalmente, de acuerdo con la evaluación que dio cada laboratorio de microbiología sobre la calidad del hemovin y la sangre desfibrinada que recibió, los seis laboratorios incluidos en la investigación mostraron conformidad con la calidad del hemovin; sin embargo, en el caso de la sangre desfibrinada, dos de ellos valoraron de regular la calidad de esta debido a la presencia de pequeños coágulos.

En las condiciones de Cuba, la desfibrinación de sangre de carnero tiene una ventaja adicional y es que existe la posibilidad de que se envase y comercialice en el medio del cual disponga la entidad en el momento de su producción, lo que no ocurre con el hemovin, que está concebido para ser envasado en bolsas plásticas destinadas a la extracción de sangre, que solo se adquieren en mercados foráneos, con el consiguiente pago de divisas que ello implica, y que en determinado momento pudiera poner en riesgo su producción, debido a las dificultades económicas que atraviesa el país.

Pudo concluirse que, a pesar de la demostrada factibilidad del empleo de la sangre ovina desfibrinada como suplemento de enriquecimiento nutritivo para medios de cultivo de base agar en comparación con su similar, el hemovin, este último producto, por su confirmada calidad, fruto de la labor de un experimentado equipo de trabajo y de un sistema de calidad riguroso, se podrá seguir utilizando en paralelo con la sangre desfibrinada, hasta que esta, por sus ventajas evidentes y niveles de producción, lo desplace del mercado. Significa entonces que se continuará empleando el hemovin, pues hasta el presente ha venido demostrando su utilidad e importancia en la labor de rutina del laboratorio de microbiología clínica, lo cual se sustenta en los años de aplicación en el Sistema Nacional de Salud y en la experiencia en el uso de similares productos en otras latitudes del mundo, principalmente en países subdesarrollados.

Agradecimientos

El autor de este trabajo desea expresar su más sentido y sincero agradecimiento a los profesionales del Laboratorio de Hematología del Hospital General Docente Dr. Juan Bruno Zayas Alfonso y de los laboratorios de microbiología de los seis hospitales de la ciudad mencionados en el estudio, y que estuvieron involucrados en este, pues sin su inapreciable colaboración no hubiese sido posible llevarlo a cabo.

Referencias bibliográficas

1. Cruz Lazo JC, Ortiz Escobar ML, Beatriz Reyes Y. *Streptococcus* β -hemolítico del grupo A en hisopado faríngeo de estudiantes del Centro Escolar Dr. José Antonio Quiroz, Departamento de San Miguel. Año 2017 [tesis de grado]. San Miguel: Universidad de El Salvador; 2017 [citado 20/05/2019]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/17126/1/50108381.pdf>
2. Niederstebruch N, Doris Sixt, Benard Isah Benda, Nestor Banboye. A suitable blood agar containing human blood especially for the use in laboratories of developing countries. *J Infect Dev Ctries*. 2017 [citado 20/05/2019];11(5):399-406. Disponible en: <https://jidc.org/index.php/journal/article/view/30943176/1702>
3. Felcaro MV. *Streptococcus pyogenes* beta hemolítico del grupo A. *NotiWiener Digital*. 2016 Sep [citado 20/05/2019]. Disponible en: <https://notiwiener.net/2016/09/streptococcus-pyogenes-%CE%B2-hemolitico-del-grupo-a/>
4. Leiva J, Del Pozo JL. Bacilos gramnegativos de crecimiento lento: grupo HACEK, *Capnocytophaga* y *Pasteurella*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017 [citado 20/05/2019];35(Supl 3):29-43. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-X0213005X17617194>
5. Barrero Cuevas L. *Microbiología Clínica*. Madrid: Editorial Síntesis; 2016 [citado 20/05/2019]. Disponible en: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>

6. Rosner R. Effect of various anticoagulants and no anticoagulants on ability to isolate bacteria directly from parallel clinical blood specimens. *Am Jour Clin Path.* 1967;49(2):216-9.
7. Evans GL, Cekoric T, Searcy RL. Comparative effects of anticoagulants on bacterial growth in experimental blood culture. *Am Jour Med Tec.* 1968;34(2):103-12.
8. Núñez TMC, Wilson TMM, Zaror TML. Evaluación del efecto de dos anticoagulantes sobre el desarrollo bacteriano en hemocultivos. *Rev Chil Pediatr.* 1979 [citado 20/05/2019];50(1). Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rcp/v50n1/art05.pdf>
9. Russell FM, Biribo SSN, Selvaraj G, Oppedisano F, Warren S, et al. As a bacterial medium, citrated hair sheep blood agar is a practical alternative to citrated human blood agar in laboratories in developing countries. *J Clin Micro.* 2006;44:3346–51.
10. Yeh E, Pinsky BA, Banaei N, Baron EJ. Hair Sheep Blood, Citrated or Defibrinated, Fulfills All Requirements of Blood Agar for Diagnostic Microbiology Laboratory Tests. *PLoS One.* 2009 [citado 20/05/2019];4(7):e6141. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2700971/>
11. Cano Corales KA, Ugarte Córdoba AM. Evaluación del medio de cultivo agar sangre humana con glóbulos rojos lavados para el desarrollo de cepas de *Streptococcus agalactiae* [tesis de grado]. Lima: Universidad de Norbert Wiener; 2020 [citado 20/05/2019]. Disponible en: http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/3972/T061_452000_35_45987150_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
12. Vila J, Gómez MD, Salavert M, Bosch J. Métodos de diagnóstico rápido en microbiología clínica: necesidades clínicas. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2017 [citado 20/05/2019];35(1):41-6. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-metodos-diagnostico-rapido-microbiologia-clinica-S0213005X16303500>
13. TCM. ¿Qué son las Cepas ATCC? Publicación Digital. 2020 [citado 20/05/2019]. Disponible en: <https://www.tcmetrologia.com/blog/que-son-las-cepas-atcc/>
14. Aske KC, Waugh CA. Expanding the 3R principles. More rigour and transparency in research using animals. *EMBO Reports.* 2017;18(9):1490-2.

15. Soriano Cabré M. Estudio de las alteraciones hematológicas en ovejas afectadas por diferentes patologías [tesis de grado]. Zaragoza: Universidad de Zaragoza; 2016 [citado 20/05/2019]. Disponible en: <https://zaguan.unizar.es/record/60450/files/TAZ-TFG-2017-074.pdf>
16. National Institutes of Health; U.S. National Library of Medicine. LABEL: CPDA-1-anticoagulant citrate phosphate dextrose adenine solution. DailyMed. 2019 Nov [citado 20/05/2019]. Disponible en: <https://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/drugInfo.cfm?setid=55b6d4f4-553c-409c-b5b2-44aaffcf5048>
17. dos Santos Dias L, Soares da Rocha Bauzer LG, Pereira Lima JB. Artificial blood feeding for Culicidae colony maintenance in laboratorie: does the blood source condition matter? Rev Inst Med Trop São Paulo. 2018 [citado 20/05/2019];60:e45. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S1678-9946201860045>
18. Sánchez-Neira Y, Angarita-Merchán M. Determinación de hemólisis en cepas de *Staphylococcus* spp causantes de mastitis bovina. Revista Investig Salud Univ Boyacá. 2018 [citado 20/05/2019];5:(1):15-30. Disponible en: <http://revistasdigitales.uniboyaca.edu.co/index.php/rs/article/view/266/390>
19. Guyton AC, Hall JE. Coagulación sanguínea: proceso y factores más importantes. En: Tratado de fisiología médica. 13 ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana; 2019.
20. Egwuatu TO, Ogunsola FT, Okodugha IM, Jide B, Arewa DG, Osinupebi OA. Effect of Blood Agar from Different Animal Blood on Growth Rates and Morphology of Common Pathogenic Bacteria. Advances in Microbiology. 2014 [citado 20/05/2019];4(16):1237-41. Disponible en: https://www.scirp.org/pdf/AiM_2014123014065959.pdf



Esta obra está bajo una [licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).