



BD Sabouraud Glucose Agar

USO PREVISTO

BD Sabouraud Glucose Agar, suministrado en frascos, es un medio parcialmente completado que se utiliza para el aislamiento y cultivo de hongos (levaduras, mohos y dermatofitos) a partir de muestras clínicas y no clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

Sabouraud Glucose Agar fue desarrollado por Sabouraud para el cultivo de dermatofitos^{1,2}. En la actualidad se utiliza para el aislamiento y cultivo de todos los hongos, incluidos los procedentes de muestras clínicas^{3,4}. El medio tiene un efecto ligeramente inhibitor en las bacterias contaminantes debido a su bajo pH y la alta concentración de glucosa. Se menciona en las pruebas de límite microbiano en la USP⁵. Cuando se suplementa con 100 mg de tetraciclina o 100 mg de benzilpenicilina sódica por litro de medio, el medio cumple con la especificación de la Farmacopea Europea⁶.

En **BD Sabouraud Glucose Agar**, la neopeptona es una fuente de factores de crecimiento nitrogenados. La glucosa (dextrosa) proporciona una fuente de carbono y energía para el crecimiento de microorganismos. La alta concentración de glucosa y el pH relativamente bajo favorecen el crecimiento de hongos, mientras que numerosas bacterias no toleran la alta concentración de azúcar y son inhibidas parcialmente por el bajo pH. Sin embargo, si no recibe suplemento de antimicrobianos antibacterianos, el medio presenta una selectividad solamente débil.

BD Sabouraud Glucose Agar son medios parcialmente completados (=semifinalizados) suministrados en frascos de los que el usuario puede preparar medios en placa o en tubo. Se pueden añadir agentes antimicrobianos, tales como la gentamicina (0,04 g/L) y el cloranfenicol (0,4 g/L), la tetraciclina (0,1 g/L) o la bencilpenicilina (0,1 g/L) antes de completar el medio para incrementar la selectividad.

REACTIVOS

BD Sabouraud Glucose Agar

Fórmula* por litro de agua purificada

Bacto Neopeptone	5,0 g
Glucosa (dextrosa)	40,0
Agar	19,0

pH 5,6 ± 0,2

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD. Solamente para uso profesional.

No utilizar los frascos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro. Para completar este medio en frasco parcialmente completado, seguir los métodos y observar las precauciones descritas en

PROCEDIMIENTO - Preparación del reactivo. Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir los frascos, almacenarlos en un lugar oscuro a 5 – 25 °C. No congelar ni sobrecalentar. El medio puede inocularse hasta la fecha de caducidad e incubarse durante los períodos de incubación recomendados. Los frascos de envases abiertos pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad. Los frascos abiertos deben utilizarse de inmediato. Para preparar placas o tubos del medio en frasco, primero debe licuarse. No licuar el medio más de una vez después de solidificarse.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Las placas preparadas del medio semifinalizado se inoculan con 10 - 100 UFC por placa de las cepas de *C. albicans* y *A. niger*. Para *S. cerevisiae* y *T. mentagrophytes*, utilizar una dilución de 1:10 de una suspensión ajustada al patrón 0,5 de MacFarland e inocular con 10 µL (aproximadamente 10³ UFC) por placa. Para obtener más detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**. Incubar las placas tal como se indica en el pie de página de la tabla.

* <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Crecimiento de bueno a excelente
* <i>Saccharomyces cerevisiae</i> NCPF 1211 o DSM 1333	Crecimiento de bueno a excelente
** <i>Aspergillus niger</i> ATCC16404	Crecimiento de bueno a excelente
*** <i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Crecimiento de bueno a excelente
Sin inocular	Ambar; el medio en el frasco puede estar opaco

Incubación: *48 h / **3 a 4 días / ***5 a 7 días, 25 °C –30 °C, atmósfera aerobia

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Sabouraud Glucose Agar (medio en frasco parcialmente completado). Véase en la sección **DISPONIBILIDAD** los volúmenes de llenado y los tamaños de envases.



Materiales no suministrados

Autoclave (ajustado a 100 ± 2 °C), estufa de vapor o placa térmica; baño María (48 – 50 °C); materiales de vidrio y placas de Petri de plástico o tubos estériles. Medios de cultivo auxiliar y el equipo de laboratorio que se requiera.

Preparación del reactivo

Licuar **BD Sabouraud Glucose Agar** (medio en frasco) calentándolo en autoclave o estufa de vapor. También se puede colocar el frasco en un recipiente adecuado con agua, el que se coloca sobre una placa térmica y se lleva a ebullición. **Aflojar un poco la tapa antes de calentar para permitir que se equilibre la presión.**

Advertencia: No se recomienda utilizar un horno de microondas para la licuación del medio. No colocar los frascos de medios con cierres metálicos en el horno de microondas.

Si se utiliza un autoclave, ajustar una temperatura no superior a 100 ± 2 °C, puesto que un calentamiento excesivo puede deteriorar los ingredientes, lo que posiblemente genere un rendimiento microbiológico no satisfactorio. Si se utiliza una placa térmica y/o baño María, hervir el tiempo suficiente para disolver todo el medio. El tiempo necesario para completar la licuación del medio puede variar considerablemente y depende de la temperatura real del dispositivo de calentamiento antes de usar, su potencia y el volumen y temperatura del medio en el recipiente. Se recomienda analizar y registrar el tiempo requerido para la licuación después del primer uso.

Después de licuar completamente, retirar el recipiente del dispositivo de calentamiento y colocarlo en un baño María a 48 - 50 °C.

Advertencia: ¡Usar guantes que protejan del calor! No poner el recipiente caliente en un baño de hielo ni en agua fría para acelerar el enfriamiento, ya que se podría agrietar el material de vidrio. ¡Riesgo grave de quemadura por vapor!

Dejar el recipiente en el baño María lo suficiente para permitir el enfriamiento de todo el medio a la temperatura definida.

Si se añaden suplementos sensibles al calor para la preparación de un medio en placa, la temperatura del medio no debe ser superior a 50 °C. Pueden añadirse agentes antimicrobianos tales como gentamicina (0,04 g/L) y cloranfenicol (0,4 g/L), tetraciclina (0,1 g/L) o bencilpenicilina (0,1 g/L) para incrementar la selectividad. Disolver por completo los antimicrobianos en un volumen pequeño (10 a 15 mL) de agua, esterilizar por filtración la solución y añadir al medio. ¡Emplear condiciones asépticas cuando se añada el suplemento y durante el vertido en las placas! Utilizar placas y tubos estériles. Mezclar el medio suavemente después de añadir el suplemento, pero evitar la formación de espuma y burbujas.

Verter el medio en las placas si se desea una inoculación superficial. Para una placa normal de 90 a 100 mm, es apropiado un volumen de 19 a 21 mL. Dejar solidificar el medio completado, invertir las placas y dejar secar a temperatura ambiente durante un período adecuado (para que se solidifique por completo, almacenar de un día para otro a 18 - 23 °C). Guardar en bolsas de plástico nuevas y almacenar a 2 - 8 °C. Las placas preparadas de este medio pueden ser utilizadas durante 5 a 7 días.

Si se ha de aplicar el método de vertido en placa, añadir el material de prueba o su dilución en la placa vacía, cubrir con el medio, girar la placa suavemente para mezclar y dejar solidificar completamente.

Para la preparación de agares inclinados en tubos, añadir a los tubos la cantidad apropiada de medio licuado (sin suplementos antibacterianos), enfriado a 48 - 50 °C, y dejar solidificar en la posición inclinada deseada. Los tubos cerrados herméticamente con tapas roscadas, almacenados en un lugar oscuro a temperatura ambiente o a 2 - 8 °C, pueden utilizarse durante 2 -3 semanas.

Antes de su utilización, las superficies del medio no deben presentar una humedad excesiva.

Licuar el medio en frasco solamente una vez. No dejar que se solidifiquen restos para licuarlos posteriormente una segunda vez, dado que un calentamiento repetido puede dañar los ingredientes del medio, lo que generará un rendimiento microbiológico no satisfactorio.

Tipos de muestras

El medio sin suplementar, vertido en placas de Petri o tubos, se utiliza en diversos procedimientos, por ej., en pruebas farmacéuticas. En la microbiología clínica, se pueden utilizar medios sin suplementar y suplementado con agentes antibacterianos en placas de Petri para el aislamiento de hongos a partir de todo tipo de muestras clínicas. Debe utilizarse el medio en placa suplementado con gentamicina y cloranfenicol si las muestras contienen una gran cantidad de contaminantes bacterianos. Para la recogida y el procesamiento de especies, consultar las referencias^{7,8}. El medio llenado en tubos no debe utilizarse para el aislamiento de hongos directamente a partir de muestras clínicas, sino utilizarse exclusivamente para el crecimiento y mantenimiento de cultivos fúngicos.

Procedimiento de análisis

Las superficies de agar deben estar lisas y húmedas, pero sin humedad en exceso, que causaría un crecimiento confluyente.

Extender las muestras tan pronto como sea posible después de recibirlas en el laboratorio. La placa de extensión se utiliza principalmente para aislar los cultivos puros de las muestras con flora mixta. Si, por el contrario, el material se cultiva directamente empleando una torunda, hacerla girar en una sección pequeña cercana al borde, extendiendo luego a partir de esta área inoculada. Incubar las placas o los tubos en las condiciones seleccionadas. Consultar las referencias para obtener más información acerca del procesamiento y la incubación de muestras²⁻⁸.

Si se utilizan para la detección de levaduras (por ejemplo, la especie *Candida*) en las muestras clínicas, incubar durante 48 horas a 30 - 35 °C. Si se sospechan hongos filamentosos, incluidos los dermatofitos, incubar una semana o más a 25 - 30 °C. Los dermatofitos a veces requieren 3 semanas o más para producir crecimiento. Si se utiliza para el control de higiene, incubar durante un máximo de 7 días a 20 - 25 °C. Para el aislamiento de dermatofitos, también se debe

utilizar **BD Dermatophyte Agar**. Si la muestra se debe incubar durante más de 3 días, proporcionar humedad adecuada. Las placas pueden precintarse con cinta de plástico adhesiva para evitar la deshidratación. Para obtener detalles acerca de la temperatura e incubación para crecimiento, consultar las referencias²⁻⁸.

El medio de agar inclinado en tubos se utiliza para el cultivo y mantenimiento de cultivos fúngicos. Extender la cepa directamente después de la suspensión en agua o solución salina estériles en la totalidad de la superficie inclinada. Incubar según sea apropiado para el aislado. Durante la incubación, las tapas deben estar ligeramente flojas para permitir aireación. Después de la incubación y durante el almacenamiento, cerrar completamente.

Resultados

Después de la incubación, es posible que en las placas aparezca una sección donde confluye el crecimiento. Dado que el procedimiento de extensión de la muestra es, de hecho, una técnica de "dilución", se depositan cada vez menos microorganismos en las áreas extendidas. Por consiguiente, una o más de estas áreas presentarán colonias aisladas de los organismos que contenga la muestra. Por otra parte, el crecimiento de cada organismo podrá medirse semi-cuantitativamente basándose en el crecimiento ocurrido dentro de las áreas en donde se extienden las muestras.

Si se inoculan con un inóculo apropiado, los agares inclinados presentarán crecimiento en la totalidad de la superficie. Los tubos inoculados pueden almacenarse refrigerados durante varios meses sin que el cultivo pierda viabilidad. El tiempo de supervivencia depende de las cepas individuales.

El número y los tipos de hongos que crecen en el medio completado preparado de **BD Sabouraud Glucose Agar** (medios en frasco) es muy elevado. Por tanto, no se pueden presentar detalles específicos acerca de su aspecto. Consultar las referencias^{2,4,8-10}.

De los aislados obtenidos en el medio en placa, se deben realizar subcultivos adecuados para permitir la diferenciación e identificación adicionales de los hongos aislados.

CARACTERISTICAS DEL RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Sabouraud Glucose Agar (medios en frasco) se utiliza en diversos procedimientos no clínicos^{5,6}. En la microbiología clínica, el medio en placa puede utilizarse para el aislamiento de hongos de todos los tipos de muestras clínicas^{2,4,8-10}.

El medio inclinado en tubos no se utiliza directamente con las muestras clínicas, sino que se utiliza exclusivamente para el mantenimiento y crecimiento de cultivos fúngicos puros.

El medio no suplementado es sólo débilmente selectivo. Por tanto, es posible que crezcan bacterias, en especial después de una incubación prolongada. Si se sospecha contaminación bacteriana de las muestras, materiales o zonas investigadas, el medio debe suplementarse antes del uso con antimicrobianos antibacterianos, por ej., gentamicina y cloranfenicol, tetraciclina, bencilpenicilina u otros según proceda (véase **Preparación del reactivo**).

Debido al amplio intervalo de temperaturas de crecimiento de los hongos que ocurren como agentes infecciosos, puede ser necesario inocular varias placas con el mismo medio e incubarlas a diferentes temperaturas. Consultar la sección **Procedimiento de análisis** y las referencias correspondientes^{2,4,8,10}.

REFERENCIAS

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralité des trichophytons de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3: 1061-1087.
2. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech 11, Practical methods for culture and identification of fungi in the clinical microbiology laboratory. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. MacFaddin, J.F. 1985. Media for isolation-cultivation- identification-maintenance of medical bacteria. vol. I. Williams & Wilkins, Baltimore.
4. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.

5. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc. 2000. The U.S. Pharmacopeia 24/The national formulary 19-1999. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md.
6. Council of Europe, 2002. European Pharmacopoeia, 4th edition, and Supplement 4.2. 2002. European Pharmacopoeia Secretariat. Strasbourg/France.
7. Sutton, D.A. 2003. Specimen collection, transport, and processing: mycology. In: Murray, P.R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
8. Pfaller, M.A., and R.A. Tenenbaum (section ed.). 2003. Mycology. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Downes, F.P., and K. Ito (ed.). 2001. Compendium of methods for the microbiological examination of foods, 4th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
10. Larone, D.H. 2002. Medically important fungi: a guide to identification. 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Sabouraud Glucose Agar (medios en frasco parcialmente completados)

Nº de cat. 257104	12 frascos	250 mL (volumen de llenado); en frasco plano de 300 mL
Nº de cat. 257153	25 frascos	100 mL (volumen de llenado); en frasco de jarabe de 150 mL
Nº de cat. 257261	4 frascos	400 mL (volumen de llenado); en frasco de laboratorio de 500 mL

INFORMACION ADICIONAL

Para obtener más información, diríjase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems
 Tullastrasse 8 – 12
 D-69126 Heidelberg/Germany
 Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16
 Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe
 Becton Dickinson France SA
 11 rue Aristide Bergès
 38800 Le Pont de Claix/France
 Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, and BD logo are trademarks of Becton, Dickinson and Company.
 Bacto is a trademark of Difco Laboratories, division of Becton, Dickinson and Company.
 ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
 © 2003 Becton, Dickinson and Company