



BBL Sabouraud Dextrose Agar



BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

L007492 • Rev. 12 • Octubre 2015

PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE CALIDAD (Opcionales)

I INTRODUCCION

Sabouraud Dextrose Agar (agar dextrosa Sabouraud) es un medio no selectivo para el cultivo y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos, en especial dermatofitos. Se logra selectividad mediante la adición de cloranfenicol.

II REALIZACION DEL PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

1. Licuar Sabouraud Dextrose Agar Deep en tubos A mediante ebullición en baño María.* Enfriar a 45 – 50 °C y verter en placas de Petri y dejar solidificar durante como mínimo 30 min.
***NOTA:** No se recomienda utilizar un horno de microondas.
2. Inocular muestras representativas con los cultivos enumerados a continuación.
 - a. Extender en la superficie de agar 0,01 mL de asa calibrada utilizando cultivos de caldo fúngicos (hasta 7 días de antigüedad). Para *Escherichia coli*, inocular un asa llena utilizando un cultivo de caldo de soja **Trypticase** de 18 a 24 h diluido en proporción 10⁻¹.
 - b. Incubar los recipientes de prueba a 25 – 30 °C en una atmósfera aerobia. Las tapas deben estar flojas en los medios en los tubos y frascos.
 - c. Incluir agares inclinados de Sabouraud Dextrose Agar en calidad de controles no selectivos cuando se analice Sabouraud Dextrose Agar con medios con cloranfenicol.**NOTA:** Trabajar con *A. brasiliensis* (ATCC 16404) en una cabina de seguridad biológica.
3. Examinar los recipientes durante un máximo de 7 días para ver si presentan crecimiento y pigmentación y en busca de selectividad en el medio con cloranfenicol.
4. Resultados previstos

Para Sabouraud Dextrose Agar

Organismos de control CLSI (cepas ATCC)

**Candida albicans* (60193)..... Crecimiento a las 72 h

**Trichophyton mentagrophytes* (9533) Crecimiento a las 72 h

Para Sabouraud Dextrose Agar con cloranfenicol

**Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 Crecimiento

**Candida albicans* ATCC 10231 Crecimiento

**Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 Crecimiento

**Escherichia coli* ATCC 25922..... Inhibición (parcial a completa)

*Cepa de organismo recomendada para control de calidad del usuario.

III CONTROL DE CALIDAD ADICIONAL

1. Examinar los tubos o frascos como se describe en la sección “Deterioro del producto”.
2. Examinar visualmente los tubos o frascos representativos para asegurarse de que los defectos físicos existentes no interfieran con el uso.
3. Determinar el pH potenciométricamente a temperatura ambiente para verificar el cumplimiento de la especificación de 5,6 ± 0,2.
4. Incubar tubos o frascos representativos sin inocular a una temperatura de 20 – 25 °C y 30 – 35 °C y examinar después de 7 días en busca de contaminación microbiana.

INFORMACION DEL PRODUCTO

IV USO PREVISTO

Sabouraud Dextrose Agar se utiliza en procedimientos cualitativos para cultivo de dermatofitos. Se incrementa la selectividad del medio para hongos mediante la adición de cloranfenicol.

V RESUMEN Y EXPLICACION

Sabouraud Dextrose Agar es un medio de propósito general diseñado por Sabouraud para el cultivo de dermatofitos¹. Un bajo pH (de 5,6 aproximadamente) favorece el crecimiento de hongos, en especial los dermatofitos, con efecto ligeramente inhibidor para las bacterias contaminantes en muestras clínicas^{2,4}. La adición de cloranfenicol es una modificación diseñada para aumentar la inhibición bacteriana y posibilitar el aislamiento de muestras contaminadas de hongos oportunistas que causan infecciones clínicas similares a la dermatofitosis pero sensibles a la cicloheximida incluida en algunos medios fúngicos selectivos^{3,4}.

VI PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO

Sabouraud Dextrose Agar es un medio de peptona suplementado con dextrosa para favorecer el crecimiento de hongos. Las peptonas son fuentes de factores de crecimiento nitrogenados. La dextrosa proporciona una fuente de energía para el

crecimiento de microorganismos. El cloranfenicol es un antibiótico de amplio espectro con efecto inhibidor para una amplia variedad de bacterias gram negativas y positivas cuando se agrega a la fórmula.

VII REACTIVOS

Sabouraud Dextrose Agar

Fórmula aproximada* por litro de agua purificada

Digerido pancreático de caseína 5,0 g

Digerido péptico de tejido animal 5,0 g

Dextrosa 40,0 g

Agar 15,0 g

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

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol contiene 0,05 g de cloranfenicol además de los elementos enumerados anteriormente.

Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

Los tubos con tapas ajustadas deben abrirse con cuidado para evitar lesiones por la rotura del vidrio.

En las muestras clínicas puede haber microorganismos patógenos, como los virus de la hepatitis y el virus de la inmunodeficiencia humana. Para la manipulación de todos los elementos contaminados con sangre u otros líquidos corporales deben seguirse las "Precauciones estándar"⁶⁻⁹ y las directrices del centro. Después de su utilización, los tubos preparados, los recipientes de muestras y otros materiales contaminados deben esterilizarse en autoclave antes de ser desechados.

Instrucciones para el almacenamiento

Al recibir los tubos, almacenarlos en un lugar oscuro a 2 – 8 °C. No congelar ni sobrecalentar. No abrir hasta que se vayan a utilizar. Reducir al mínimo la exposición a la luz. Los medios en tubos almacenados como se indica en sus etiquetas hasta momentos antes de su utilización pueden ser inoculados hasta la fecha de caducidad e incubados durante los períodos de incubación recomendados (un máximo de 6 semanas para los medios micológicos). Dejar que el medio se caliente a temperatura ambiente antes de la inoculación.

Deterioro del producto

No utilizar los tubos si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación o cualquier otro signo de deterioro.

VIII RECOGIDA Y MANIPULACION DE LAS MUESTRAS

Las muestras adecuadas para cultivo pueden manipularse mediante diversas técnicas. Para obtener información detallada, consultar los textos correspondientes^{10,11}. Las muestras deben obtenerse antes de administrar los agentes antimicrobianos. Deben adoptarse las medidas necesarias para un transporte inmediato al laboratorio.

IX PROCEDIMIENTO

Material suministrado

Sabouraud Dextrose Agar o

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Materiales necesarios pero no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos, organismos para el control de calidad y el equipo de laboratorio que se requiera.

Procedimiento de análisis

Emplear técnicas asépticas.

Licuar el agar contenido en los tubos A mediante ebullición en baño María*, dejar enfriar a 45 – 50 °C y verter en placas de Petri. Dejar solidificar durante el menos 30 min.

Con placas y frascos, extender la muestra tan pronto como sea posible después de recibirla en el laboratorio, mediante un asa de inoculación estéril para obtener colonias aisladas. Consultar las referencias correspondientes para obtener información acerca del procesamiento e inoculación de muestras^{3,4}.

Los agares inclinados en tubo preparados están diseñados para uso con cultivos puros con fines de mantenimiento y otros propósitos.

Los medios pueden inocularse hasta la fecha de caducidad e incubarse durante un máximo de 6 semanas.

Para el aislamiento de hongos de muestras potencialmente contaminadas, se debe inocular un medio selectivo junto con uno no selectivo. Incubar los recipientes a 25 – 30 °C con mayor humedad. Todos los cultivos deben examinarse al menos una vez por semana para ver si presentan crecimiento fúngico y deben mantenerse durante 4 – 6 semanas antes de ser interpretados como negativos.

***NOTA:** No se recomienda utilizar un horno de microondas.

Control de calidad del usuario

Véase "Procedimientos de control de calidad".

Cada lote de medios se ha probado con los microorganismos de control de calidad adecuados mediante una prueba que cumple las especificaciones del producto y los criterios aplicables del CLSI. Como siempre, las pruebas de control de calidad se deben llevar a cabo conforme a la normativa local, estatal, federal o nacional aplicable, a los requisitos de los organismos de acreditación y/o a los procedimientos estándar de control de calidad del laboratorio.

Se debería utilizar un electrodo suficientemente pequeño como para entrar en los tubos para determinar el pH potenciométricamente de los medios en tubos, frascos y medios **Mycoflask**. En los medios sólidos o semisólidos, la punta del electrodo debería estar colocada en la parte central de la masa de agar.

X RESULTADOS

Después de una incubación suficiente, los recipientes deben mostrar colonias aisladas en áreas extendidas y crecimiento confluyente en áreas de inoculación densa.

Puede ser necesario transferir el crecimiento de los agares inclinados a medios en placa para obtener cultivos puros de hongos.

Examinar los recipientes para ver si presentan colonias de hongos con morfología típica microscópica y de colonias^{4,12}. Las pruebas bioquímicas y procedimientos serológicos deben realizarse para confirmar los hallazgos.

XI LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Es posible que algunos hongos (por ejemplo, *Blastomyces dermatitidis*) no se recuperen en este medio debido al alto contenido de carbohidratos¹³.

Para su identificación, los organismos deben encontrarse en un cultivo puro. Deben llevarse a cabo pruebas morfológicas, bioquímicas y/o serológicas para lograr una identificación final. Consultar los textos correspondientes para obtener información detallada y procedimientos recomendados^{10,11}.

XII CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sabouraud Dextrose Agar

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de recipientes de Sabouraud Dextrose Agar se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Mediante un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan muestras representativas del lote con cultivos de caldo fúngicos recientes de *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533) y *Candida albicans* (ATCC 60193). Se efectúa la lectura de los recipientes para ver si presentan crecimiento y pigmentación de colonias después de 2, 5 y 7 días de incubación a 25 – 30 °C. *C. albicans* presenta crecimiento entre medio y denso, con colonias de color blanco a blanco grisáceo. *T. mentagrophytes* presenta un crecimiento de promedio a denso, con colonias de color blanco a blanco grisáceo/marrón claro.

Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol

Antes de su lanzamiento al mercado, todos los lotes de Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol se someten a prueba para determinar sus características de rendimiento. Mediante un asa calibrada de 0,01 mL, se inoculan muestras representativas del lote con cultivos en caldo fúngicos recientes de *Trichophyton mentagrophytes* (ATCC 9533), *Candida albicans* (ATCC 60193), *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) y cultivo de caldo de soja **Trypticase** de *Escherichia coli* (ATCC 25922). Se efectúa la lectura de los recipientes para ver si presentan crecimiento y pigmentación de colonias después de 2, 5 y 7 días de incubación a 25 – 30 °C. *C. albicans* presenta crecimiento entre medio y denso, con colonias de color blanco a blanco grisáceo. *T. mentagrophytes* presenta crecimiento de promedio a denso, con colonias de color blanco a blanco grisáceo/marrón claro. *A. brasiliensis* presenta crecimiento de medio a denso, con colonias de color marrón a negro. El crecimiento de *E. coli* es leve o está completamente inhibido.

XIII DISPONIBILIDAD

Nº de cat. Descripción

221012	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, pqt. de 10 tubos de tamaño A
221013	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Slants, caja de 100 tubos de tamaño A
296182	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar Deepes (Pour Tubes), 20 mL, caja de 100 tubos de tamaño A
221136	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar, frascos Mycoflask , pqt de 10
221825	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol Slants, caja de 100 tubos de tamaño A
221314	BD BBL Sabouraud Dextrose Agar with Chloramphenicol, frascos Mycoflask , pqt. de 10

XIV BIBLIOGRAFIA

1. Sabouraud, R. 1892. Contribution a l'etude de la trichophytie humaine. Etude clinique, microscopique et bacteriologique sur la pluralite des trichophytons de l'homme. Ann. Dermatol. Syphil. 3:1061-1087.
2. 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.
3. Haley, L.D., J. Trandel, and M.B. Coyle. 1980. Cumitech II, 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.
4. Kane, J., and R.C. Summerbell. 1999. *Trichophyton*, *Microsporium*, *Epidermophyton*, and agents of superficial mycoses, p. 1275-1294. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
5. Lorian, V. (ed.) 1991. Antibiotics in laboratory medicine, 3rd ed. Williams & Wilkins, Baltimore.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Approved Guideline M29-A3. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 3rd ed. CLSI, Wayne, Pa.
7. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
8. U.S. Department of Health and Human Services. 2007. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 5th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
9. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.

10. Murray, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgensen, M.A. Pfaller, and R.H. Tenenbaum (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
11. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 2002. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 11th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
12. Larone, D.H. 1995. Medically important fungi: a guide to identification, 3rd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Flores, M., and D. Welch. 1992. Mycology. Culture media, p. 6.7.1.-6.7.3. In H.D. Isenberg (ed.), Clinical microbiology procedures handbook, vol. 1. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Servicio técnico de BD Diagnostics: póngase en contacto con el representante local de BD o visite www.bd.com/ds.



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
BD, BD Logo, and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2015 BD