Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol EP/USP/ISO

Cat. 1134

Para el cultivo selectivo y el aislamiento de levaduras y hongos.

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Recuento selectivo	Hongos y levaduras

Industria: Farmacéutica/Veterinaria / Alimentación / Cultivo general / Test de susceptibilidad antimicrobianos

Regulaciones: USP / ISO 11133 / ISO 16212 / Farmacopea Europea



DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Principios y usos

Agar Dextrosa Sabouraud con Cloranfenicol se puede utilizar para cultivar levaduras, mohos (como hongos patógenos, particularmente aquellos asociados con infecciones de la piel) y microorganismos acidúricos. Este medio también se usa para determinar el contenido microbiano y fúngico de los cosméticos y para la evaluación micológica de los alimentos. Es recomendado por ISO 16212 para la enumeración de levaduras y mohos en productos cosméticos.

La fórmula se basa en la Farmacopea Europea. La dextrosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. La mezcla de peptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El agar bacteriológico es el agente solidificante. La alta concentración de dextrosa y el pH ácido hacen que este medio sea selectivo para los hongos.

Este medio es una modificación del agar dextrosa descrito por Sabouraud, con la adición de cloranfenicol que inhibe la gran mayoría de los contaminantes bacterianos. El cloranfenicol es un antibiótico que ayuda a aislar hongos patógenos de material altamente contaminado, ya que inhibe la mayoría de las bacterias contaminantes. Es un antibiótico recomendado para su uso con medios debido a su estabilidad térmica y amplio espectro bacteriano.

Este medio tiene una menor concentración de cloranfenicol que el medio del mismo nombre (Cat. 1090), por lo que es menos inhibidor de las bacterias contaminantes.

Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol es recomendado por la Farmacopea Europea cuando se espera que el recuento total de levaduras y hongos (TYMC) supere el criterio de aceptación debido al crecimiento bacteriano.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	15	Cloranfenicol	0,05
Dextrosa	40	Mezcla de digerido péptico de tejido animal y pancreático de caseína (1:1)	10

Fórmula típica g / L * Ajustada y/o suplementada según sea necesario para cumplir con los criterios de rendimiento.

Preparación

Suspender 65 gramos del medio en un litro de agua destilada. Mezclar bien y disolver con calor y agitación frecuente. Hervir durante un minuto hasta la disolución completa. Distribuir y esterilizar en autoclave a 118-121 ºC durante 15 minutos. NO SOBRECALENTAR.

Instrucciones de uso

De acuerdo a la Farmacopea Europea para el examen de TYMC en productos:

Filtración por membrana:

- Preparar la muestra.
- Transferir la cantidad apropiada de la muestra a un filtro de membrana.
- Colocar la membrana en la superficie de Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol.
- Incubar la placa de Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol a 20-25 ºC durante 5-7 días.

Métodos de recuento en placa:
- Preparar la muestra.
- Inocule las placas de Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol de acuerdo con el método de siembra en profundidad o el método de siembra en superficie.
- Incubar las placas de Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol a 20-25 ºC durante 5-7 días.
- Seleccionar las placas correspondientes a una dilución dada y que muestren el mayor número de colonias menor de 50.

De acuerdo a la Farmacopea Europea para la prueba de Candida albicans en productos:
- Preparar el producto a examinar y usar 10 ml o la cantidad correspondiente a no menos de 1 g o 1 ml para inocular 100 ml de Caldo Dextrosa Sabouraud.
- Incubar a 30-35 ºC durante 3-5 días.
- Subcultivar en una placa de Agar Dextrosa Sabouraud + Cloranfenicol.
- Incubar a 30-35 ºC durante 24-48 horas.
- El crecimiento de colonias blancas puede indicar la presencia de C. albicans. Confirmar mediante pruebas de identificación.
- El producto cumple con la prueba si dichas colonias no están presentes o si las pruebas de confirmación son negativas.

Para la enumeración de levaduras y mohos según ISO 16212:
- Preparar la suspensión inicial de una muestra de al menos 1 g o 1 ml del producto. Si es necesario, se pueden realizar diluciones en serie adicionales (por ejemplo, dilución 1:10) a partir de la suspensión inicial utilizando el mismo diluyente (de acuerdo con el nivel de contaminación esperado del producto).
- La enumeración levaduras y los mohos se puede hacer por métodos de recuento en placa y método de filtración por membrana.
- Inocular la suspensión inicial y/o la dilución de la muestra en placas Sabouraud Dextrose Agar + Cloranfenicol.
- Incubar a 25±2,5 ºC durante 3-5 días.
- Después de la incubación, contar las colonias.

Control de calidad

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25ºC)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Ámbar, ligeramente opalescente	5,6 ± 0,2

Test microbiológico

Según la Farmacopea Europea:
Condiciones de incubación: Aspergillus brasiliensis y Candida albicans (20-25 ºC / <= 5 días).
Condiciones de inoculación: (<= 100 CFU).

Según ISO 11133; Sacharomyces cerevisiae:
Condiciones incubación: (25±1 ºC / 5 días).
Condiciones inoculación: Productividad cuantitativa: (100±20.Min.50 CFU).
Medio referencia: Lote SDA ya validado.

Resto de cepas:
Condiciones de incubación: (30 ºC / 3-7 días)

Microrganismos	Especificación	Reacción característica
Candida albicans ATCC 10231	Buen crecimiento	Colonias blancas
Aspergillus brasiliensis ATCC 16404	Buen crecimiento	
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición	
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibición	
Saccharomyces cerevisiae ATCC 9763	Buen crecimiento, >70%	Colonias crema abovedadas

Almacenamiento

Temp. Min.:2 ºC
Temp. Max.:25 ºC

Bibliografía

Sabouraud R. 1892. Ann. Dermatol. Syphilol. 3:1061.
Jarett, L., and A.C. Sonnenwirth (ed) 1980. Gradwohl's clinical laboratory methods and diagnosis, 8th ed. CV Mosby.
Curry, A. S., J. G. Graf, and G. N. McEwen, Jr. (ed) 1993. CTFA Microbiology Guidelines. The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Association, Washington, D.C.
European Pharmacopoeia. 9.3
ISO 16212: 2017 Cosmetics. Microbiology. Enumeration of yeast and molds.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS