

Comparación entre los diversos medios de cultivo comerciales para aislamiento de hongos (levaduras y mohos)*

Jorge Sanchis Solera. Microkit Ibérica, S.L.

Recuperación, diversidad y selectividad son los tres parámetros que se tienen en cuenta en este estudio para comparar los medios agarizados más habituales que se comercializan para hongos.

Bajo estos puntos de vista, el mejor resultado lo da con diferencia espectacular el Rosa Bengala CAF Agar, seguido del WL Nutrient Agar en cuanto a recuperación; la diversidad en mohos es máxima en Sabouraud CAF Agar y WL Nutrient Agar, y en levaduras, además de en ellos en Rosa Bengala CAF Agar; la selectividad es máxima en Rosa Bengala CAF Agar, Sabouraud CAF Agar y OGYE. El medio que mejor combina los tres parámetros es el Rosa Bengala CAF Agar.

Introducción

Se analiza la recuperación (recuento total de mohos y levaduras), la diversidad (en número de especies recuperadas) y la selectividad (recuento total de bacterias) de los siguientes medios de cultivo:

- | | |
|----------------------------|---|
| 1. Sabouraud Dextrose Agar | Marca "K" (SDA-K) |
| 2. Sabouraud Dextrose Agar | Marca "O" (SDA-O) |
| 3. Sabouraud Dextrose Agar | Marca "P" (SDA-P) |
| 4. Sabouraud CAF Agar | Marca "K" (SCAF-K) |
| 5. Sabouraud CAF Agar | Marca "P" (SCAF-P) |
| 6. Sabouraud Maltose Agar | Marca "K" (SMA-K) |
| 7. Sabouraud Maltose Agar | Marca "M" (SMA-M) |
| 8. Malt Extract Agar | Marca "K" (MEA-K) |
| 9. Malt Extract Agar | Marca "K" + Auramina (MEA-AUR-K) |
| 10. Malt Agar | Marca "K" (MA-K) |
| 11. Potato Dextrose Agar | Marca "K" (PDA-K) |
| 12. Potato Dextrose Agar | Marca "D" (PDA-D) |
| 13. OGYE | Marca "K" (OGYE-K) |
| 14. OGYE | Marca "K" + Bilis de Buey (OGYE-BILIS-K) |
| 15. Rosa Bengala CAF Agar | Marca "K" (RBCAF-K) |
| 16. Rosa Bengala CAF Agar | Marca "D" (RB-D) |
| 17. Rosa Bengala CAF Agar | Marca "K" con Dicloroanilina (RB-DICHL-K) |
| 18. Orange Serum Agar | Marca "K" (ORANGE-K) |
| 19. Orange Serum Agar | Marca "B" (ORANGE-B) |
| 20. Orange Serum Agar | Marca "D" (ORANGE-D) |
| 21. WL Nutrient Agar | Marca "K" (WL-K) |
| 22. Czapek Dox Agar | Marca "K" (CZ-K) |
| 23. Dichloro Glicerina | Marca "K" (DICH-GL-K) |
| 24. Plate Count Agar | Marca "K" (PCa-K) incluido como control |

*Estudio realizado entre marzo de 1993 y abril de 1995.

Para dar objetividad al trabajo no mencionamos marcas, aunque debe saberse que se trata de las marcas más conocidas en España, incluida la nuestra; sí aprovechamos para resaltar la calidad de los medios Microkit, que se observa en todos estos estudios comparativos.

Las cepas utilizadas han sido elegidas de entre las de aspecto colonial más típico, a fin de distinguir las fácilmente "de visum" en el estudio de diversidad:

Cuatro mohos:

- *Trichotecium roseum*, procedente de cacao, de color salmón
- *Penicillium* sp. blanco, obtenido del queso Brie
- *Penicillium* sp. verde, obtenido del aeroplancton
- *Penicillium* sp. amarillo, obtenido de cáscara de naranja

Dos levaduras:

- *Rhodotorula glutinis*, de la CECT nº 1137, de color rojizo
- *Saccharomyces lactis*, obtenido de leche condensada, de color blanco

Siete bacterias:

- *Pseudomonas aeruginosa*, de la ATCC nº 27853
- *Escherichia coli*, de la ATCC nº 25922
- *Staphylococcus aureus*, de la ATCC nº 29213
- *Bacillus cereus*, de la CECT nº 193
- *Bacillus subtilis*, de la ATCC nº 6633
- *Lactobacillus plantarum*, de la ATCC nº 8014
- *Streptococcus faecalis*, de la ATCC nº 29212.

Se inocularon todas estas cepas bacterianas como flora acompañante para dar más rigor al estudio de selectividad. Lógicamente, el uso de alguna de las pocas cepas resistentes al cloranfenicol hubiese estropeado los resultados de los medios que basan su selectividad en dicho antibacteriano de amplio espectro. Tampoco se introdujo el moho superinvasor *Neurospora crassa*.

No hemos estudiado la capacidad de formación de estructuras reproductoras de cada medio, tema donde los resultados probablemente distarán mucho de los de este estudio y justificarán la proliferación de medios con malta, patata, etc.

Para realizar el estudio comparativo, se han inoculado sobre placas preparadas con cada medio, por siembra en superficie con triángulo de vidrio flameado, disoluciones conocidas de las siguientes cuatro muestras dobles:

1A. Líquido tamponado a pH 5'5, calibrado con proporciones similares de los cuatro mohos, las dos levaduras y las siete bacterias.

(1-Ácido-4M-2L-7B)

1B. Líquido tamponado a pH 8'5, calibrado con proporciones similares de los cuatro mohos, las dos levaduras y las siete bacterias.

(1-Básico-4M-2L-7B)

2A. Líquido tamponado a pH 5'5, calibrado con proporciones similares de las dos levaduras y las siete bacterias.

(2-Ácido-2L-7B)

2B. Líquido tamponado a pH 8'5, calibrado con proporciones similares de las dos levaduras y las siete bacterias.

(2-Básico-2L-7B)

3A. Líquido tamponado a pH 5'5, calibrado con proporciones similares a los cuatro mohos y a las siete bacterias.

(3-Ácido-4M-7B)

3B. Líquido tamponado a pH 8'5, calibrado con proporciones similares de los cuatro mohos y las siete bacterias.

(3-Básico-4M-7B)

4A. Líquido tamponado a pH 5'5, calibrado con proporciones similares de los cuatro mohos y las dos levaduras.

(4-Ácido-4M-2L)

4B. Líquido tamponado a pH 8'5, calibrado con proporciones similares de los cuatro mohos y las dos levaduras.

(4-Básico-4M-2L).

Las soluciones madre se agitaban constante y enérgicamente para dispersar todas las células y esporas con capacidad germinativa (tema de gran importancia en mohos). El diluyente utilizado fue LPT100 Neutralizing Broth de Microkit.

Al ser cada muestra cuadruplicada, se parte de una base de datos de 768 placas.

La lectura se realizó a los tres y a los siete días.

Tabla de resultados

Se enfrentan las distintas muestras (una tabla para cada una) con los diferentes medios de cultivo, con la lectura a tres y a siete días, a pH ácido y básico.

– El primer resultado que se da en cada caso (1ª línea) es el número de UFC (mohos+levaduras+bacterias). Cuando son incontables, se especifica con un asterisco en el siguiente dato si la expansión es bacteriana o fúngica.

– El segundo resultado (2ª línea) es el número de especies distinguibles de mohos (M), levaduras (L) y/o bacterias (B) (diversidad). Un asterisco tras la B indica que el recuento fue imposible por expansión bacteriana. Un asterisco tras la M indica lo mismo por expansión de un moho. Con las levaduras no se dio ningún caso de expansión.

– El tercer resultado (3ª línea, izquierda) marca la selectividad, calculada restando de 1 el cociente entre nº de especies de bacterias/nº de especies de mohos+levaduras+bacterias, en tanto por ciento. Este resultado falta en la Tabla 4, al no haberse inoculado bacterias en la muestra 4.

– El cuarto resultado (3ª línea, derecha) indica la recuperación, calculada como relación de número de mohos+levaduras recuperados/número de mohos+levaduras inoculados.

Tabla 1
Muestras con 4M, 2L y 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|-----------|-------------------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| SDA-K | 28 2M 2L 1B 80 % 4/6 | 44 3M 2L 1B 83 % 5/6 | 28 2M* 2L 100 % 4/6 | 44 2M* 2L 1B 80 % 4/6 |
| SDA-O | 30 1M 2L 1B 75 % 3/6 | 48 1M 2L 1B 75 % 3/6 | 30 1M* 2L 100 % 3/6 | 48 1M 2L 1B 75 % 3/6 |
| SDA-P | 36 2M 2L 1B 80 % 4/6 | Incontables 2M 2L 2B* 67 % 4/6 | 36 1M 2L 1B 75 % 3/6 | Incontables 1M 2L 1B* 75 % 3/6 |
| SCAF-K | 38 3M 2L 100 % 5/6 | 48 2M 2L 100 % 4/6 | 38 1M 2L 100 % 3/6 | 48 1M* 2L 100 % 3/6 |
| SCAF-P | 36 3M 2L 100 % 5/6 | 46 2M 2L 1B 80 % 4/6 | 36 1M 2L 100 % 3/6 | 46 1M 2L 100 % 3/6 |
| SMA-K | 32 2M 2L 2B 67 % 4/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 | 32 2M* 2L 1B* 80 % 4/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 |
| SMA-M | 43 1M 2L 2B 60 % 3/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 | 43 2M 2L 2B* 67 % 4/6 | Incontables 1M 2L 3B* 50 % 3/6 |
| MEA-K | 40 2M 2L 2B 67 % 4/6 | Incontables 2M 2L 2B* 67 % 4/6 | 40 1M 2L 1B* 75 % 3/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 |
| MEA-AUR-K | 36 1M 2L 1B 75 % 3/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 | 36 1M 2L 1B* 75 % 3/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 |
| MA-K | Incontables 1M 2L 2B 60 % 3/6 | Incontables 3M 2L 2B* 71 % 5/6 | Incontables 2M* 2L 1B* 80 % 4/6 | Incontables 1M 2L 2B* 60 % 3/6 |
| PDA-K | 42 2M 2L 1B 80 % 4/6 | Incontables 2M 2L 2B* 67 % 4/6 | 42 2M 2L 1B 80 % 4/6 | Incontables 1M 2L 1B* 75 % 3/6 |
| PDA-D | 43 2M 2L 1B 80 % 4/6 | Incontables 2M 2L 2B* 67 % 4/6 | 43 2M 2L 1B 80 % 4/6 | Incontables 1M 2L 1B* 75 % 3/6 |

Tabla 1 (bis)
Muestras con 4M, 2L y 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|--------------|-----------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| OGYE-K | 38 1M 2L 100 % 3/6 | 52 2M 2L 100 % 4/6 | 38 1M 2L 100 % 3/6 | 52 2M 2L 100 % 4/6 |
| OGYE-BILIS-K | 34 1M 100 % 1/6 | 31 2M 2L 100 % 4/6 | 34 1M 1L 100 % 2/6 | 31 1M* 100 % 1/6 |
| RB CAF-K | 96 2M 2L 100 % 4/6 | 87 3M 2L 100 % 5/6 | 96 1M 2L 100 % 3/6 | 87 1M 2L 100 % 3/6 |
| RB-D | 78 2M 2L 100 % 4/6 | 80 2M 2L 100 % 4/6 | 78 1M 2L 100 % 3/6 | 80 1M 2L 100 % 3/6 |
| RB-DICHL-K | 80 2M 2L 100 % 4/6 | 66 2M 2L 100 % 4/6 | 80 1M 2L 100 % 3/6 | 66 1M 2L 100 % 3/6 |
| ORANGE-K | 38 3M 2L 1B 83 % 5/6 | 28 1M 2L 1B 75 % 3/6 | 38 2M 2L 1B* 80 % 4/6 | 28 1M 2L 1B* 75 % 3/6 |
| ORANGE-B | 36 1M 2L 1B 75 % 3/6 | 22 1M 2L 1B 75 % 3/6 | 36 1M 2L 1B* 75 % 3/6 | 22 1M 2L 1B* 75 % 3/6 |
| ORANGE-D | 30 1M 2L 2B 60 % 3/6 | 26 1M 1B 50 % 1/6 | 30 2M 2L 1B* 80 % 4/6 | 26 1M 2L 2B* 60 % 3/6 |
| WL-K | 30 2M 2L 100 % 4/6 | 62 2M 2L 1B 80 % 4/6 | 30 1M* 1L 100 % 2/6 | 62 1M* 2L 100 % 3/6 |
| CZ-K | Incontables 1M 2B* 33 % 1/6 | Incontables 4B* 0 % 0/6 | Incontables 1M 2B* 33 % 1/6 | Incontables 1M 2B* 33 % 1/6 |
| DICH GL-K | 23 2M 100 % 2/6 | 34 1M 1L 100 % 2/6 | 23 2M 2L 100 % 4/6 | 34 2M 2L 100 % 4/6 |
| PCA-K | Incontables 3B* 0 % 0/6 | Incontables 2B* 0 % 0/6 | Incontables 2B* 0 % 0/6 | Incontables 3B* 0 % 0/6 |

Tabla 2
Muestras con 2L 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| SDA-K | 23 2L 7B 67 % 2/2 | 23 2L 1B 67 % 2/2 | 23 2L 1B 67 % 2/2 | 23 2L 1B* 67 % 2/2 |
| 8 SDA-D | 10 2L 1B 67 % 2/2 | 8 2L 1B 67 % 2/2 | 10 2L 1B 67 % 2/2 | 2L 2B* 50 % 2/2 |
| SDA-P | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 |
| S CAF-K | 16 2L 100 % 2/2 | 76 2L 100 % 2/2 | 16 2L 100 % 2/2 | 76 2L 100 % 2/2 |
| S CAF-P | 13 2L 100 % 2/2 | 78 2L 100 % 2/2 | 13 2L 100 % 2/2 | 78 2L 100 % 2/2 |
| SMA-K | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 3B* 40 % 2/2 | Incontables 2L 4B* 33 % 2/2 |
| SMA-M | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontable 2L 4B* 33 % 2/2 | Incontables 2L 5B* 29 % 2/2 |
| MEA-K | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 5B* 29 % 2/2 |
| MEA-AUR-K | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 5B* 29 % 2/2 |
| MA-K | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 | Incontables 2L 1B* 67 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 3B* 40 % 2/2 |
| PDA-K | Incontables 2L 3B* 40 % 2/2 | Incontables 2L 3B* 40 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 |
| PDA-D | Incontables 2L 3B 40 % 2/2 | Incontables 2L 3B 40 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 |

Tabla 2 (bis)
Muestras con 2L 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|--------------|----------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| OYGE-K | 28 2L 100 % 2/2 | 25 2L 100 % 2/2 | 28 2L 100 % 2/2 | 25 2L 100 % 2/2 |
| OYGE-BILIS-K | 14 2L 100 % 2/2 | 12 2L 100 % 2/2 | 14 1L 100 % 2/2 | 12 1L 100 % 2/2 |
| RB CAF-K | 89 2L 100 % 2/2 | 99 2L 100 % 2/2 | 89 2L 100 % 2/2 | 99 2L 100 % 2/2 |
| RB-D | 96 2L 100 % 2/2 | 96 2L 100 % 2/2 | 96 2L 100 % 2/2 | 96 2L 100 % 2/2 |
| RB DICHL-K | 96 2L 100 % 2/2 | 98 2L 100 % 2/2 | 96 2L 100 % 2/2 | 98 2L 100 % 2/2 |
| ORANGE-K | Incontables 2L 2B 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 |
| ORANGE-B | Incontables 2L 2B 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B 50 % 2/2 | Incontable 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 |
| ORANGE-D | Incontables 1L 2B 33 % 1/2 | Incontables 1L 2B 33 % 1/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 | Incontables 2L 2B* 50 % 2/2 |
| WL-K | 23 2L 1B 67 % 2/2 | 18 2L 1B 67 % 2/2 | 23 2L 1B* 67 % 2/2 | 18 2L 2B* 50 % 2/2 |
| Z-K | Incontables 1L 3B 25 % 1/2 | Incontables 1L 3B 25 % 1/2 | Incontables 2B* 0 % 0/2 | Incontables 1L 3B* 25 % 1/2 |
| DICH GL-K | 0 0 % 0/2 | 9 1L 100 % 1/2 | 2 2L 100 % 2/2 | 9 2L 100 % 2/2 |
| PCA-K | Incontables 2B 0 % 0/2 | Incontables 2B 0 % 0/2 | Incontables 1L 2B* 33 % 1/2 | Incontables 1L 3B* 25 % 1/2 |

Tabla 3
Muestras M4 y 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|-----------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| SDA-K | 20 2M 1B 67 % 2/4 | 33 2M 2B 50 % 2/4 | 20 1M* 100 % 1/4 | 33 2M* 100 % 2/4 |
| SDA-D | 21 2M 1B 67 % 2/4 | 31 3M 1B 75 % 3/4 | 21 1M* 100 % 1/4 | 31 2M* 100 % 2/4 |
| SDA-P | 14 3M 2B 60 % 2/4 | 22 1M 1B 50 % 1/4 | 14 2M 1B 67 % 2/4 | 22 2M* 100 % 2/4 |
| S CAF-K | 21 3M 100 % 3/4 | 22 3M 100 % 3/4 | 21 2M* 100 % 2/4 | 22 3M 100 % 3/4 |
| S CAF-P | 21 2M 100 % 3/4 | 28 3M 100 % 3/4 | 21 1M* 100 % 1/4 | 28 2M* 100 % 2/4 |
| SMA-K | 28 2M 2B 50 % 2/4 | 12 3M 2B 60 % 3/4 | 28 3M* 1B 75 % 3/4 | 12 2M 3B* 40 % 2/4 |
| SMA-M | 21 2M 2B 50 % 2/4 | 12 1M 2B 33 % 1/4 | 21 2M 2B* 50 % 2/4 | 12 2M 3B* 40 % 2/4 |
| MEA-K | 21 2M 2B 50 % 2/4 | 22 1M 2B 33 % 1/4 | 21 1M 1B 50 % 1/4 | 22 2M 2B* 50 % 2/4 |
| MEA-AUR-K | 17 1M 3B 25 % 1/4 | 24 1M 3B 25 % 1/4 | 17 1M* 2B 33 % 1/4 | 24 2M 2B* 50 % 2/4 |
| MA-K | 24 2M 2B 50 % 2/4 | 14 1M 2B 33 % 1/4 | 24 2M 2B 50 % 2/4 | 14 2M 3B* 40 % 2/4 |
| PDA-K | 18 1M 2B 33 % 1/4 | 23 2M 3B 40 % 2/4 | 18 2M 1B 67 % 2/4 | 23 3M* 100 % 3/4 |
| PDA-D | 14 1M 2B 33 % 1/4 | 20 2M 3B 40 % 2/4 | 14 2M 1B 67 % 2/4 | 20 3M* 100 % 3/4 |

Tabla 3 (bis)
Muestras M4 y 7B

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|--------------|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| OGYE-K | 16 2M 100 % 2/4 | 18 2M 100 % 2/4 | 16 3M 100 % 3/4 | 18 2M 100 % 2/4 |
| OGYE-BILIS-K | 27 2M 100 % 2/4 | 35 2M 100 % 2/4 | 27 1M* 100 % 1/4 | 35 2M 100 % 2/4 |
| RB CAF-K | 55 1M 1B 50 % 1/4 | 40 1M 2B 33 % 1/4 | 55 2M 100 % 2/4 | 40 2M 100 % 2/4 |
| RB-D | 32 2M 1B 67 % 2/4 | 58 1M 2B 33 % 1/4 | 32 1M 100 % 1/4 | 58 3M 100 % 3/4 |
| RB DICHL-K | 35 2M 1B 67 % 2/4 | 49 1M 2B 33 % 1/4 | 35 2M 100 % 2/4 | 49 2M 100 % 2/4 |
| ORANGE-K | 24 1M 2B 33 % 1/4 | 13 1M 1B 50 % 1/4 | 24 1M 1B* 50 % 1/4 | 13 1M 2B* 33 % 1/4 |
| ORANGE-B | 17 1M 2B 33 % 1/4 | 28 1M 2B 33 % 1/4 | 17 1M* 1B 50 % 1/4 | 28 1M 2B* 33 % 1/4 |
| ORANGE-D | 17 1M 2B 33 % 1/4 | 20 1M 1B 50 % 1/4 | 17 1M 1B* 50 % 1/4 | 20 1M 2B* 33 % 1/4 |
| WL-K | 29 2M 1B 67 % 2/4 | 44 2M 100 % 2/4 | 29 1M* 100 % 1/4 | 44 2M* 100 % 2/4 |
| CZ-K | 2 1M 2B 33 % 1/4 | 13 1M 2B 33 % 1/4 | 2 1M 2B* 33 % 1/4 | 13 2M 4B* 33 % 2/4 |
| DICH GL-K | 18 1M 100 % 1/4 | 27 2M 100 % 1/4 | 18 2M* 100 % 2/4 | 27 3M* 100 % 3/4 |
| PCA-K | Incontables 3B 0 % 0/4 | Incontables 3B 0 % 0/4 | Incontables 3B* 0 % 0/4 | Incontables 3B* 0 % 0/4 |

Tabla 4
Muestras M4 y 2L

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|-----------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| SDA-K | 39 2M 2L 4/6 | 41 2M 2L 4/6 | 39 1M 2L 3/6 | 41 3M* 2L 5/6 |
| SDA-D | 37 2M 2L 4/6 | 32 2M 2L 4/6 | 37 1M* 2L 3/6 | 32 2M* 2L 4/6 |
| SDA-P | 36 3M 2L 5/6 | 45 3M 2L 5/6 | 36 2M 2L 4/6 | 45 2M 2L 4/6 |
| S CAF-K | 36 2M 2L 4/6 | 48 3M 2L 5/6 | 36 2M* 2L 4/6 | 48 3M* 2L 5/6 |
| S CAF-P | 38 2M 2L 4/6 | 30 2M 2L 4/6 | 38 2M 2L 4/6 | 30 2M 2L 4/6 |
| SMA-K | 12 2M 2L 4/6 | 34 1M 2L 3/6 | 12 3M* 2L 5/6 | 34 2M* 2L 4/6 |
| SMA-M | 43 2M 2L 4/6 | 52 3M 2L 5/6 | 43 3M* 2L 5/6 | 52 3M* 2L 5/6 |
| MEA-K | 38 2M 2L 4/6 | 32 1M 1L 2/6 | 38 3M* 2L 5/6 | 32 2M* 2L 4/6 |
| MEA-AUR-K | 12 2M 2L 4/6 | 21 1M 2L 3/6 | 12 1M 2L 3/6 | 21 2M* 2L 4/6 |
| MA-K | 38 3M 2L 5/6 | 45 1M 1L 2/6 | 38 3M* 2L 5/6 | 45 3M* 2L 5/6 |
| PDA-K | 43 2M 2L 4/6 | 45 2M 2L 4/6 | 43 3M 2L 5/6 | 45 3M* 2L 5/6 |
| PDA-D | 52 2M 2L 4/6 | 41 2M 2L 4/6 | 52 3M 2L 5/6 | 41 3M* 2L 5/6 |

Tabla 4 (bis)
Muestras M4 y 2L

| | Lectura 3 días | | Lectura 7 días | |
|--------------|--------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | Ácido | Básico | Ácido | Básico |
| OYGE-K | 43 2M 2L 4/6 | 35 2M 2L 4/6 | 43 1M* 2L 3/6 | 35 2M* 2L 4/6 |
| OYGE-BILIS-K | 52 2M 2/6 | 35 1M 1L 2/6 | 52 3M* 3/6 | 35 2M* 1L 3/6 |
| RB CAF-K | 42 2M 2L 4/6 | 54 2M 2L 4/6 | 42 4M 2L 6/6 | 54 2M 2L 4/6 |
| RB-D | 42 2M 2L 4/6 | 42 3M 2L 5/6 | 42 2M 2L 4/6 | 42 2M 2L 4/6 |
| RB DICHL-K | 29 2M 2L 4/6 | 50 3M 2L 5/6 | 29 2M 2L 4/6 | 50 2M 2L 4/6 |
| ORANGE-K | 20 3M 2L 5/6 | 34 2M 2L 4/6 | 20 2M* 2L 4/6 | 34 1M* 2L 3/6 |
| ORANGE-B | 26 2M 2L 4/6 | 36 2M 2L 4/6 | 26 3M* 2L 5/6 | 36 1M* 2L 3/6 |
| ORANGE-D | 26 2M 2L 4/6 | 56 2M 2L 4/6 | 26 2M* 2L 4/6 | 56 2M* 2L 4/6 |
| WL-K | 56 3M 2L 5/6 | 44 3M 2L 5/6 | 56 1M* 2L 3/6 | 44 1M* 2L 3/6 |
| CZ-K | 31 2M 2L 4/6 | 20 2M 1L 3/6 | 31 2M* 1L 3/6 | 20 2M* 2L 4/6 |
| DICH GL-K | 16 1M 1/6 | 26 2M 2/6 | 16 3M 2L 5/6 | 26 2M 2L 4/6 |
| PCA-K | 49 2M 1L 3/6 | 28 2M 2L 4/6 | 49 2M* 2L 4/6 | 28 2M* 1L 3/6 |

Interpretación de resultados Análisis de las distintas variables

1. Naturaleza de la carga microbiana de la muestra

Cuando no hay bacterias en el microhábitat de la placa, unos mohos interfieren en el crecimiento de otros mohos y unas levaduras en el crecimiento de otras levaduras. Sin embargo, una flora mixta con mohos, levaduras y bacterias, parece acelerar el crecimiento general y mejorar las recuperaciones tanto de hongos como de bacterias.

2. Tiempo de lectura; Spreading bacteriano; Tamaños coloniales

Recuentos realizados antes del tercer día pueden dar resultados muy engañosos. La diferencia de recuperación entre 3 y 7 días de lectura no ha resultado significativa, excepto en medios lentos como el DICH-GL. Lo que sí aumenta con el tiempo es la diversidad, al aparecer nuevas especies de crecimiento más lento. Los medios más rápidos tienen el inconveniente de presentar con más frecuencia spreadings bacterianos. Estos impiden nuevos crecimientos posteriores de microorganismos más lentos. Favorecen dicho spreading los medios: SDA, SMA, MEA, MEA-AUR, MA, PDA, ORANGE, WL, CZAPEK Y PCA.

El medio DICH-GL, seguido del OGYE-BILIS, OGYE y MEA-AUR ralentizan los resultados dando lugar a colonias pequeñas y siendo su óptima lectura a los 5 días. El problema es que pasado dicho tiempo los mohos invasores también se expanden como en otros medios más rápidos, por lo cual no los recomendamos (como han hecho otros autores) para evitar la expansión de los mohos.

- Las colonias en CZ suelen salir malformadas
- Los mohos (Tabla 3) parecen inhibir el spreading bacteriano. En cambio, las levaduras (Tabla 2) parecen favorecerlo
- Los medios sin expansión bacteriana son los más selectivos (SCAF, RB CAF, OGYE y DICH-GL).

La invasión por los mohos de crecimiento rápido no varía en función de que la flora acompañante sean bacterias o levaduras y ocurre más en los siguientes medios (lógicamente, sobre todo en la lectura a 7 días) por orden decreciente: WL, SDA, SCAF, SMA, MA, OGYE, ORANGE, MEA, PDA, DICH-GL, CZ, PCA. No ocurre en RB en ningún caso.

3. pH de la muestra

Muy poca influencia ha demostrado tener el pH de la muestra en la recuperación y diversidad de levaduras y mohos en este estudio. Contrasta con datos generalizados el hecho de que en la Tabla 4 aparezcan 926 colonias a pH básico y sólo 856 a pH ácido. La diferencia es poco significativa cuantitativamente, pero cualitativamente dice mucho. En teoría, a pH ácido crecen peor las bacterias en general (no así los lactobacilos) y por tanto, teóricamente los mohos y levaduras podrían crecer mejor. Se ha utilizado mucho el pH como agente selectivo en medios para le-

vaduras y mohos. Posiblemente nuestros resultados tengan menor validez que otros al tratarse de muestras artificialmente inoculadas y no de muestras con flora autóctona.

Debería replantearse un estudio más a fondo del tema.

4. Selectividad*

La máxima selectividad se da en los medios con antibióticos de amplio espectro (cloranfenicol y Oxitetraciclina): SCAF, RB CAF y OGYE. No aparecen bacterias ni, por tanto, sus spreadings. Secundariamente han resultado bastante selectivos el CZ y el WL.

5. Diversidad

En mohos, la máxima diversidad se obtiene con SCAF (2'5), seguido del WL (2'33), SDA (2'11), RB (1'94), PDA (1'81), OGYE (1'75), SMA-MEA-MA (1'63), ORANGE (1'55), DICH-GL (1'5) y por último CZ (1'17). Los números se refieren a la media del número de mohos diferentes por placa (con respecto a los 4 mohos inoculados).

En levaduras, la diversidad es máxima en SDA, SCAF, RB y WL (2), seguidos de SMA-MEA-MA (1'93), ORANGE (1'78), PDA-OGYE (1'58), CZ (0'83), DICH-GL (0'67) y por último, PCA (0'5). Los números son la media de levaduras diferentes por placa (con respecto a las 2 levaduras inoculadas).

En cuanto a la diversidad conjunta de hongos (levaduras y mohos) gana el SCAF (4'87), seguido del WL (4'5), SDA (4'25), RB (4'19), PDA (4'06), OGYE (3'75), SMA-MEA-MA (3'6), ORANGE (3'62), DICH-GL (2'25) y por último del CZ (2'12). El número es la media con respecto a los 6 inoculados.

6. Recuperación

Sin tener en cuenta las placas con spreading, el máximo número de individuos de hongos se obtiene en RB (66'67 UFC/placa) seguido a gran distancia por el PCA (38'5), el WL (38'25) el S-CAF (37'19), el PDA (34'1), el OGYE (30'94), el SDA (29'7), el SMA-MEA-MA (28'13), el ORANGE (27'61), el DICH-GL (19'12) y por último el CZ (16'5).

7. Otros comentarios relativos a los medios de cultivo: Clave

Del análisis de las distintas variables se desprenden conclusiones que permiten la elaboración de una clave para la elección de los medios de cultivo más adecuados en función de lo que se desea obtener. En cada apartado los medios se disponen en orden decreciente de interés:

- A. Máxima recuperación de individuos, recuento total óptimo:**
1. Rosa Bengala CAF Agar (66'7 colonias/placa)
 2. WL Nutrient Agar (38'2 colonias/placa)
 3. Sabouraud CAF Agar (37'2 colonias/placa)
 4. Potato Dextrose Agar (34'1 colonias/placa)

B. Máxima diversidad de especies:

1. Sabouraud CAF Agar y Sabouraud Dextrose Agar (2'44 especies/placa)
2. WL Nutrient Agar (2'32 especies/placa). Las colonias de levaduras son muy claras.
3. Rosa Bengala CAF Agar (2'17 especies/placa). Aunque en una placa concreta apareció el máximo absoluto: 6 especies.
4. Dicloroglicerina Agar (pero no por ser un buen nutriente, sino por ralentizar los mohos de crecimiento rápido).

C. Máxima selectividad frente a todo tipo de bacterias y consecuente ausencia de spreadings bacterianos; uso ideal con alta flora acompañante:

1. Rosa Bengala CAF Agar, Sabouraud CAF Agar (100 %)
2. OGYE (99 %). El cloranfenicol resulta algo más selectivo que la oxitetraciclina.
3. WL Nutrient Agar (83 %).

No son recomendables: SDA, SMA, MEA, MEA-AUR, MA, PDA, ORANGE. Los medios con malta favorecen el crecimiento de bacterias acompañantes.

D. Mínima expansión de las colonias de mohos:

1. Rosa Bengala CAF Agar. Ni un solo caso de colonias invasoras. El Rosa Bengala restringe mucho mejor la invasión que otros productos conocidos como la Auramina, la Bilis de Buey o la Dicloroglicerina.
2. WL, OGYE, OGYE-BILIS y DICH-GL: Algún caso.

No son recomendables: SDA, SCAF, SMA, MEA, MA, PDA, ORANGE, CZ y PCA.

E. Máxima biomasa en el mínimo tiempo.

1. Sabouraud Maltose Agar.
2. Potato Dextrose Agar.

F. Mejor revitalización tras estar las cepas en estado subletal.

1. Potato Dextrose Agar.

G. Crecimiento de especies concretas.

Para *Rhodotorula glutinis* resulta ideal el SAB-CAF y pésimo el OGYE.

Para *Trichotecium roseum* resulta ideal el DICH-GL.

H. Labilidad de los medios.

La fama de fotolabilidad del Rosa Bengala CAF Agar es infundada. No hemos encontrado diferencia alguna entre las placas mantenidas (3 meses) e incubadas a la luz y aquellas mantenidas e incubadas en la oscuridad. En cambio, hemos observado gran termolabilidad en el WL Nutrient Agar, Potato Dextrose Agar, Malt Extract Agar con Auramina y, secundariamente, en Orange Serum Agar, Sabouraud Dextrose Agar, Sabouraud CAF Agar, Sabouraud Maltose Agar y OGYE.

I. Producto que analizar.

La elección final de uno u otro medio dependerá también de la naturaleza de la muestra. Medios como el Dicloroglicerina agar o el Rosa Bengala dicloro CAF se describen en bibliografía como excelentes para comidas deshidratadas, el M-Green Yeast & Molds y el Orange Serum Agar se recomiendan como ideales para alimentos muy ácidos, el WL Nutrient parece ideal en cervezas...

Conclusiones

El medio que aparece más universalmente recomendable tanto para ambiente como para alimentos, es el Rosa Bengala CAF Agar, dada la combinación del pH neutro con la presencia de cloranfenicol (máxima selectividad), sus ingredientes altamente nutritivos (máxima recuperación) y el colorante Rosa Bengala (máxima restricción del tamaño de los mohos invasivos).

El WL Nutrient también resulta excelente en todos los parámetros descritos, aunque a menudo sufre invasiones por mohos de crecimiento rápido. La recuperación dista bastante de la del RB CAF.

El SCAF y el OGYE son también buenos medios en ciertos parámetros, pero se ven demasiado a menudo invadidos por mohos de crecimiento rápido, y la recuperación de individuos es muy pobre con respecto al Rosa Bengala CAF Agar.

Bibliografía

1. Bragulat, M.R.; Abarca M.L.; Bruguera M.T.; Cabañes, F.J. (1992): Comparative Study of some factors affecting enumeration of moulds using dilution plate techniques. MICROBIOLOGÍA S.E.M. 8, 106-114.
2. King, Pitt & Co.: Methods for the Mycological Examination of Food NATO AS SERIES, Plenum Press.
3. Varios. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Catálogo de Cepas. 1985 S.E.M. Universidad de Valencia.
4. Hocking, A.D.; Pitt, J.I. (1980): J. Appl. & Env. Microbiol 39, 488-492.
5. King, D.A.; Hocking A.D.; Pitt, J.I. (1979): J. Appl. & Enviror. Microbiol 37, 959-964.
6. Saco, M. et al. (1985): Microbiología de materias primas para piensos compuestos y otros alimentos animales (M.A.P.A.).

Fax: (91) 897 46 41.