

## Especificación

Medio para la enumeración y cultivo de hongos según el método armonizado de las farmacopeas y normas ISO.

## Presentación

	Encajado	Caducidad	Almacenamiento
10 Frascos			
Botellas 250 ml con: 200 ± 5 ml	1 caja con 10 botellas 250 ml .tapón metálico- no pinchable .	16 meses	8-25°C

## Composición

Composición (g/l):

D(+)-Glucose..... 40,0

Peptone from casein ..... 5,0

Meat Peptone..... 5,0

Agar..... 15,0

## Descripción/Técnica

### Descripción:

El Agar de Sabouraud Dextrosa es una modificación al clásico medio de Sabouraud para el cultivo de hongos. La formulación permite un cultivo y diferenciación adecuados, ya que los aspectos morfológicos se mantienen con mayor regularidad.

La selectividad se debe a su bajo pH y la alta concentración de glucosa, que junto a una incubación a temperaturas relativamente bajas (25-30°C), permiten favorecer el crecimiento de los hongos al mismo tiempo que dificultan el de las bacterias. Además, la especial composición de la peptona, está estudiada para que suministre todos los requerimientos nutritivos nitrogenados a los hongos.

La fuerte reacción ácida del medio de Sabouraud hidroliza en parte el agar, por lo cual, se recomienda preparar el necesario y no refundirlo, ya que cualquier sobrecalentamiento disminuye notablemente su capacidad de gelificación.

Si se desea una mayor selectividad, se pueden añadir diversos inhibidores después de la esterilización, cuando el medio aún está fundido, e incluso, agentes indicadores para convertirlo en un medio diferencial. A continuación se ofrecen algunas de las mezclas inhibitorias y diferenciales que se han empleado:

- Penicilina: A razón de 20.000 u/L favorece la selectividad del medio inhibiendo la mayor parte de bacterias.
- Penicilina y Estreptomina: A razón de 20.000 u/L y 40.000 u/L respectivamente favorece el aislamiento de Histoplasma en perros.
- Penicilina y Neomicina: A razón de 20.000 u/L y 40 mg/L respectivamente se utiliza para el aislamiento de levaduras.
- Estreptomina y Cloranfenicol: A razón de 40 mg/L y 500 mg/L respectivamente, para aislamiento de Trichophyton verrucosum.
- Colistina, Novobiocina y Cicloheximida: A razón de 8 mg/L, 0,1 mg/L y 30 mg/L respectivamente para aislamiento de Candida albicans.
- Telurito potásico: A razón de 150 mg/L se utiliza para el aislamiento primario de hongos a partir de escamas y costras.
- Sulfato de cobre, Cristal Violeta y Verde Brillante: A razón de 500 mg/L, 2 mg/L y 5 mg/L respectivamente consigue una buena inhibición bacteriana.
- Cloruro de Trifeniltetrazolio (TTC): A razón de 100 mg/L se obtiene el medio de Pagano-Levín, con el que se puede diferenciar a Candida albicans, que no se colorea, de las otras levaduras patógenas que toman colores desde el rosa al púrpura.

### Técnica:

Fundir en baño maria (100°C) o en microondas, y dispensar asépticamente en placa Petri a razón de 22 ml/placa, aproximadamente.

Una vez sembradas las placas con cualquier método convencional, incubar aeróbicamente a 20-25°C durante 48h hasta 5 días. Los tiempos o temperaturas de incubación pueden variar según muestras o normativas seguidas.

Proceder al recuento de todas las colonias aparecidas y considerar las diluciones realizadas para calcular la carga microbiana (hongos y levaduras) en la muestra analizada.

Cada laboratorio debe evaluar los resultados obtenidos según especificaciones internas.

**Control de Calidad****Control Físico/Químico**

Color : amarillo pajizo

pH: 5,6 ± 0,2 a 25°C

**Control de Fertilidad**

Fusión - Preparación Placas - Según metodos y monografias armonizados en farmacopeas e normas ISO

Siembra en espiral: rango práctico 50 -100 UFC (Productividad).

Aerobiosis. Incubación 20-25°C. ≤5 días.

**Microorganismo***Aspergillus brasiliensis* ATCC® 16404, WDCM 00053*Candida albicans* ATCC® 10231, WDCM 00054*S. cerevisiae* ATCC® 9763, WDCM 00058**Desarrollo**

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

Bueno (≥70%)

**Control de Esterilidad**

Incubación 48 horas a 30-35°C v 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

**Bibliografía**

- AJELLO, L. (1957) Cultural Methods for Human Pathogenic Fungi J. Chron. Dis. 5:545-551.
- COLIPA (1997) Guidelines on Microbial Quality Management (MQM). Brussels.
- EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0 (2014) 8th ed. § 2.6.13. Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
- GEORGE, L.K., AJELLO, L. & PAPAGEORGE, C. (1954) Use of Cycloheximide in the Selective Isolation of Fungi Pathogenic to Man. J. Lab. Clin. Med, 44 (422-428).
- HANTSCHKE, D. (1968) Mykosen, 11, (769-778).
- ISO 11133:2014/ Adm 1:2018. Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and performance testing of culture media.
- PAGANO, J. LEVIN, J.D. and TREJO, W. (1957-58) Diagnostic Medium for Differentiation of Species of *Candida*. Antibiotics Annual, 137-143.
- SABOURAUD, R. (1910) Les Teignes. Masson, Paris.
- USP 33 - NF 28 (2011) <62> Microbiological examination of non-sterile products: Test for specified microorganisms. Harmonised Method. USP Corp. Inc. Rockville. MD. USA.