

Especificación

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

Fórmula * en g/L

D(+)-Glucosa.....	40,00
Peptona de caseína.....	5,00
Peptona de carne.....	5,00
Agar.....	15,00

pH final a 25 °C, 5,6 ±0,2

*Fórmula ajustada y/o suplementada según necesidades para cumplir los criterios de recuperación

Reconstitución

Disolver 65 g del polvo en 1 l de agua purificada, calentando con agitación frecuente, hasta ebullición. Distribuir en recipientes adecuados y esterilizar al autoclave durante 15 minutos a 121°C. Evítase el sobrecalentamiento, la acidez del medio puede hidrolizar parcialmente el agar.

Descripción

El Agar de Sabouraud Glucosa 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 Estreptomicina: 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.
- Estreptomicina 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 Trifeniltretazolio (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.

Control de calidad

Temperatura de incubación: 20 - 25 °C

Tiempo de incubación : ≤ 5 days

Inóculo: Rango práctico 50-100 UFC (Productividad) según UNE-EN ISO 11133:2014/Amd 1:2018 & Farm. Eur.

Método de recuento en placa con siembra en espiral

Microorganismo

Crecimiento

Observaciones

Aspergillus brasiliensis ATCC® 16404

Productividad > 0.70

Crecimiento y esporulación negra a 4 días

Saccharomyces cerevisiae ATCC® 9763

Productividad > 0.70

-

Candida albicans ATCC® 10231

Productividad > 0.70

-

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 10.0 (2020) 10th 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.
- ISO 16212 Standard (2017) Cosmetics - Microbiology - Enumeration of yeast and mould.
- 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.

Almacenamiento

Solo para uso de laboratorio. Mantener bien cerrado, al resguardo de la luz, en lugar fresco y seco (entre 4°C y 30 °C).