Referencia: FLWR3070 **A.B.E. - Ficha Técnica**

Producto: **Sabouraud 4% Dextrose Agar**

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 de 250ml. Tapón plástico con rosca.	16 meses	2-25 ºC

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 inhibidoras 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.

Instrucciones de Uso:
Fundir en baño maria (100ºC) o en microondas, y dispensar asépticamente una vez enfriado alrededor de los 50ºC en placa Petri a razón de 22 ml/placa, aproximadamente.
Una vez fundido el medio se puede mantener la botella al baño maría a 45-47°C por un tiempo máximo de 8h.
Sembrar las placas con cualquier método convencional, incubar aeróbicamente a 20-25ºC durante 48h hasta 5 dias.
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.

Nota: Los medios sólidos pueden fundirse de diferentes maneras: autoclave, baño y si el cliente lo ve conveniente también el microondas. Siempre que se escoja la opción del microondas es necesario tomar ciertas medidas de seguridad para evitar la rotura del frasco o tubo, tales como aflojar el tapón y poner la botella o tubo en un baño maría dentro del microondas. Las temperaturas y tiempos de fusión dependerán de la forma del envase, del volumen de medio y de la fuente calorífica. Deben evitarse tanto los sobrecalentamientos como los calentamientos prolongados.

Control de Calidad

Control Físico/Químico

Color : amarillo pajizo pH: 5,6 ± 0,2 a 25ºC

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).

Metodología analítica acorde con ISO 11133:2014/A1:2018; A2:2020.

Aerobiosis. Incubación a 20-25ºC y 30-35ºC, lectura a 72h (bacterias) y 3-5 dias (hongos)

Microorganismo	Desarrollo
Candida albicans ATCC® 10231, WDCM 00054 (20-25ºC)	Bueno (≥70%)
Candida albicans ATCC® 10231, WDCM 00054 (30-35ºC)	Bueno (≥70%)
Aspergillus brasiliensis ATCC® 16404, WDCM 00053	Bueno (≥70%)
S. cerevisiae ATCC® 9763, WDCM 00058	Bueno (≥70%)

Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35ºC y 48 h a 20-25 ºC: SIN CRECIMIENTO
Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones.

Bibliografia

· 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 11.0 (2023) 11th ed § 2.6.12. Microbiological examination of Non-sterile products.: Microbial Enumeration Test. Harmonised Method. EDQM. Council of Europe. Strasbourg.
· EUROPEAN PHARMACOPOEIA 11.0 (2023) 11th 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 4973:2023. Quality control of culture media and diluents used in cosmetics standards
. ISO 11930:2019. Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product.
· 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.
· JAPANESE PHARMACOPOEIA, 16th Ed. Chapter 4.05 Microbiological Examination of Non-sterile Products and Chaper 4.06 Sterility Test