

### Especificación

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

### Presentación

10 Frascos  
Botella 125 ml  
con: 100 ± 3 ml

#### Encajado

1 caja con 10 botellas de 125 ml. Tapón inyectable:  
tapón plástico con rosca. No se recomienda la  
utilización de jeringas con agujas de diámetro  
superior a 0,8 mm.

#### Caducidad

16 meses

#### Almacenamiento

8-25 °C

### Composición

Composición (g/l):

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

### Técnica :

Recoger, diluir y preparar las muestras y volúmenes según requieran las normativas y especificaciones aplicadas y los resultados previstos.

Fundir en microondas o baño maría y dispensar en placas a razón de 22 ml/placa aprox. una vez atemperado el medio a unos 50 °C aprox. Dejar solidificar en ambiente esteril.

Una vez sembradas las placas con cualquier método convencional, incubar aerobicamente a 20 - 25 °C durante 48-72 horas hasta 5 días.

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.

**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.

### Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico in vitro. No reutilizar. Para uso por parte de personal de laboratorio debidamente formado.

No utilizar el producto si muestra evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, agrietamiento o cualquier otro signo de deterioro.

## Control de Calidad

### Control Físico/Químico

Color : Amarillo pajizo                      pH: 5,6 ± 0,2 a 25°C

### Control de Fertilidad

Fusión - Preparación Placas - Según métodos y monografías 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 20-25°C y 30-35°C, lectura a 72h (bacterias) y 3-5 días (hongos)

#### Microorganismo

#### Desarrollo

*Aspergillus brasiliensis* ATCC® 16404, WDCM 00053

Bueno (≥70%)

*S. cerevisiae* ATCC® 9763, WDCM 00058

Bueno (≥70%)

*Candida albicans* ATCC® 10231, WDCM 00054 (20-25°C)

Bueno (≥70%)

*Candida albicans* ATCC® 10231, WDCM 00054 (20-25°C)

Bueno (≥70%)

### Control de Esterilidad

Incubación 48 h a 30-35°C y 48 h 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 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.