

AGAR / MEDIO PARA EL AISLAMIENTO DE HONGOS



2019/07

1- USO PREVISTO

El agar Sabouraud se usa para el aislamiento y cultivo de hongos.

Se recomienda este agar para:

- El aislamiento de hongos de muestras biológicas que no contienen flora bacteriana asociada. Las muestras que presentan una flora mixta (fúngica y bacteriana) deben cultivarse preferiblemente en:
 - Sabouraud + cloranfenicol
 - Sabouraud + gentamicina
- El cultivo de hongos para permitir su identificación posterior.
- Pruebas de esterilidad en productos farmacéuticos (medio recomendado por el Codex de la Farmacopea Francesa) o productos alimenticios, en cuyo caso, deben incubarse los tubos en el incubador o a la temperatura de laboratorio durante una noche.

Este medio puede usarse también como base para la elaboración de medios enriquecidos: medios con sangre, medios con vitaminas.

2- PRINCIPIO

El agar Sabouraud aporta elementos esenciales (peptonas y glucosa) que promueven el crecimiento de hongos.

3- CÓMO SE SUMINISTRA

- Medio listo para usar: (para dispensar)
 - 25 tubos tubos inclinados de 8 ml (**SAB**) código 56524
- Medio deshidratado
 - frasco de 500 g código 64494

4- COMPOSICIÓN TEÓRICA (g/l de agua destilada)

Este agar se elabora según la fórmula teórica del Medio C de la Farmacopea Europea (1).

| | |
|----------|----|
| Peptonas | 10 |
| Glucosa | 40 |
| Agar | 15 |

Preparación del medio:

Homogeneice el polvo contenido en el frasco.

Añada **42 gramos** de medio deshidratado a un litro de agua destilada estéril. Espere 5 minutos, luego mezcle hasta que se obtenga una suspensión homogénea. Caliente suavemente, agitando con frecuencia y luego caliente hasta hervir y que se consiga la disolución completa.

Si es necesario, ajuste el pH a 5,8. Esterilice en el autoclave a 121° durante 20 minutos y dispense en tubos o en placas de Petri.

5- CONSERVACIÓN

- Medio listo para usar: (para dispensar): a +2-8°C
- Medio deshidratado: frasco cerrado herméticamente en un lugar seco a +15-25°C.

La fecha de caducidad y el número de lote están indicados en el envasado.

6- INSTRUCCIONES

Material:

- Material suministrado: Agar Sabouraud.

Inoculación:

Todas las muestras biológicas pueden inocularse en agar Sabouraud. Consúltense las recomendaciones actuales para la conservación de muestras biológicas (2).

Incubación:

La temperatura y el tiempo de incubación varían de acuerdo con las características y el tipo de hongos examinados. Estos parámetros son determinados por el usuario.

Temperatura:

Como normal, la temperatura óptima para la detección de hongos en muestras biológicas es de 30-35°C.

Puede estar justificada la incubación de varios medios de cultivo a diferentes temperaturas (25-27°C, 30-35°C) cuando se estudian especies concretas de hongos.

Duración:

El tiempo de incubación varía de acuerdo con la naturaleza de la muestra y la especie de hongo sospechada.

Generalmente, las recomendaciones son las siguientes:

- Para todas las muestras examinadas para la presencia de levaduras (excepto *C. neoformans*): incubación durante 24 a 72 horas con examen diario del cultivo.
- Para las muestras profundas: incubación durante 1 a 2 semanas con examen diario del cultivo.
- El cultivo de integumentos en busca de *Dermatophytes* exige una incubación durante 3 a 4 semanas con examen dos veces por semana.
- Cuando se sospechan *C. neoformans* o un hongo dimórfico en el LCR o cualquier otra muestra: incubación durante 1 mes con examen diario del cultivo.

Lectura – Interpretación:

- Después de la incubación, observe el crecimiento de microorganismos.
- Realice la identificación del hongo (u hongos) aislados de colonias claramente definidas: examen morfológico macroscópico y microscópico, pruebas bioquímicas*, pruebas complementarias.

* La identificación de colonias de levaduras (aspecto blanco mate, de 1 a 2 mm de diámetro) puede realizarse con la galería **AuxaColor2** (código 56513).

7- RENDIMIENTO / CONTROL DE CALIDAD DE LA PRUEBA

- Aspecto del medio listo para usar: agar transparente de **color ámbar**.
- Aspecto del medio deshidratado: polvo **beige**.
- Los rendimientos de crecimiento del agar Sabouraud se verifican con las siguientes cepas:

| CEPAS | CONDICIONES DE INCUBACIÓN | RESULTADO DEL CULTIVO |
|--|-------------------------------------|--|
| <i>Candida albicans</i> ATCC 26790 | 24-48 horas a 30-35°C | Buen crecimiento |
| <i>Candida tropicalis</i> ATCC 750 | 24-48 horas a 30-35°C | Buen crecimiento |
| <i>Candida glabrata</i> | 24-48 horas a 30-35°C | Buen crecimiento |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | 24-48 horas a 30-35°C | Buen crecimiento |
| <i>Trichophyton rubrum</i> | 7 días a 30-35°C y 7 días a 20-25°C | Superficie vellosa, superficie inferior pigmentada roja-marrón |
| <i>Trichophyton violaceum</i> | 7 días a 30-35°C y 7 días a 20-25°C | Buen crecimiento, pigmento violeta |
| <i>Epidermophyton floccosum</i> | 7 días a 30-35°C y 7 días a 20-25°C | Aspecto polvoriento, superficie inferior pigmentada roja marrón |
| <i>Microsporum canis</i> ATCC 36299 | 7 días a 30-35°C y 7 días a 20-25°C | Buen crecimiento, blanco aterciopelado, dorso agamuzado |
| <i>Fusarium</i> | 7 días a 30-35°C y 7 días a 20-25°C | Buen crecimiento, pigmento violeta |

8- CONTROL DE CALIDAD DEL FABRICANTE

Todos los reactivos fabricados se elaboran según nuestro sistema de calidad, que va desde la recepción de las materias primas hasta la comercialización final del producto. Cada lote se somete a valoraciones de control de calidad y sale al mercado sólo cuando está de acuerdo con los criterios de aceptación predefinidos. Los registros relativos a la producción y al control de cada lote se conservan en Bio-Rad.

9- LÍMITES DE USO

- Evite sobrecalentar un medio de pH ácido, para impedir el reblandecimiento del agar.

10- BIBLIOGRAFÍA

1. Pharmacopée Européenne. EP9.0.
2. Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincare
92430 Marnes-la-Coquette - France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33
www.bio-rad.com



2019/07