

## SABOURAUD DEXTROSE AGAR

Terreno in polvere, pronto all'uso in piastra,  
provetta e flacone per la coltivazione di lieviti e muffe.

Indicato per la conta fungina totale e per la ricerca di *Candida albicans* nei prodotti farmaceutici non sterili con metodi armonizzati EP, USP, JP.

### FORMULA TIPICA (g/L)

Idrolisato peptico di tessuto animale	5
Idrolisato pancreatico di caseina	5
Glucosio	40
Agar	15

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN POLVERE

Sospendere 65 g di polvere in 1000 mL di acqua distillata fredda.

Portare ad ebollizione sotto agitazione ed autoclavare a 121 °C per 15 minuti. Non eccedere nei tempi e nelle temperature di ebollizione e di sterilizzazione.

pH finale 5.6 ± 0.2.

### PREPARAZIONE DEL TERRENO IN FLACONE

In un bagnomaria termoregolato a 100 °C introdurre i flaconi e riscaldare fino ad ebollizione ed a scioglimento completo. Raffreddare a 45-50 °C, mescolare e distribuire.

pH finale 5.6 ± 0.2.

### DESCRIZIONE

Sabouraud Dextrose Agar è utilizzato per l'isolamento, l'identificazione e il mantenimento dei funghi patogeni e saprofiti. Il terreno è indicato per la conta fungina totale e nella procedura di ricerca di *Candida albicans* nei prodotti non sterili con metodo armonizzato EP, USP, JP ed è conforme alle specifiche qualitative ivi riportate.

La selettività del terreno è dovuta esclusivamente al suo pH acido (5.6) che inibisce parzialmente la crescita dei batteri, fatta eccezione per quelli acidofili.

Numerosi autori hanno sperimentato diverse aggiunte al Sabouraud Dextrose Agar per restringere il campo di crescita microbica ai soli funghi patogeni. Generalmente al Sabouraud Dextrose Agar vengono aggiunti cloramfenicolo 0.05 mg/mL e cicloeximide 0.5 mg/mL. Sabouraud Dextrose Agar può essere impiegato come base per la preparazione del terreno di Pagano-Levin per l'isolamento di *Candida albicans*: ad 1 litro di SDA autoclavato e raffreddato a 50 °C aggiungere 10 mL di TTC 1% Solution (cat. n. 42111801) per ottenere una concentrazione finale di 0.1 mg/mL e la combinazione di agenti antimicrobici sopra descritta (cloramfenicolo e cicloeximide). Dopo 3 giorni di incubazione a 25 °C *Candida albicans* coltiva con colonie incolori o di colore rosa tenue, le altre candidi e gli altri funghi con colonie da rosa intenso a rosso. L'identificazione definitiva di *Candida* deve essere fatta con i test biochimici usuali. Yamane e Saitoh riportano che impiegando il terreno Pagano-Levin con TTC 0.1 mg/mL e gentamicina 50 µg/mL, si ha un notevole aumento nel ritrovamento di combinazioni multiple di lieviti nei campioni clinici.

### IMPIEGO

Inoculare il campione seminando in duplicato sulla superficie della piastra o in provetta. Incubare a 22-25 °C la prima piastra ed a 35 °C la seconda per 5-30 giorni. L'identificazione dei funghi deve essere fatta osservando i vari aspetti della morfologia delle colonie, le strutture microscopiche caratteristiche, il tasso di crescita.

Per la determinazione di *Candida albicans* nei prodotti farmaceutici non sterili operare come segue.

- Preparare la sospensione de campione in 100 mL di Sabouraud Broth utilizzando almeno 10 g o 10 mL di campione da esaminare. Incubare questa sospensione a 30 °C - 35 °C per 3-5giorni.
- Per mezzo di un'ansa trapiantare dal Sabouraud Broth su piastra di Sabouraud Dextrose Agar (REF 402005) ed incubare 30 °C -35 °C per 24-48 ore.
- La crescita di colonie bianche può indicare la presenza di *Candida albicans* da confermare con test d'identificazione appropriati
- La prova è da considerarsi negativa se sulla piastra non vi è presenza di colonie con le caratteristiche sopra descritte o se i test d'identificazione risultassero negativi.

Per i dettagli operativi della procedura per la conta fungina totale nei prodotti farmaceutici non sterili riferirsi alla Farmacopea Europea edizione corrente

**CONTROLLO QUALITÀ DELL'UTILIZZATORE (25 °C FINO A 7 GIORNI)**

Controllo produttività:

*C.albicans* ATCC 10231 \*: crescita*T.mentagrophytes* ATCC 9533\*: crescita*A.brasiliensis (niger)* ATCC 16404: crescita

\* ceppi raccomandati da CLSI M22-A3

Per il controllo di qualità nel settore farmaceutico fare riferimento alla Farmacopea Europea edizione corrente.

**CONSERVAZIONE****Terreni in polvere:** conservare a 10-30°C al riparo della luce, in luogo asciutto. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento della polvere (modifiche del colore, indurimento della polvere ecc.)

Conservare il terreno in piastra preparato in laboratorio per un massimo di un mese a 2-8°C

Conservare il terreno preparato in flacone o in provetta in laboratorio per un massimo di 3 mesi a 2-8°C

**Terreni pronti all'uso in piastra provetta e flacone:** conservare a 2-8°C nella loro confezione, fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Eliminare se vi sono segni evidenti di deterioramento.**PRECAUZIONI E SICUREZZA DEGLI OPERATORI**I preparati qui descritti non sono classificati come pericolosi ai sensi della legislazione vigente né contengono sostanze pericolose in concentrazioni  $\geq 1\%$ .

Come per tutti i terreni in polvere anche la manipolazione del Sabouraud Dextrose Agar, deve essere effettuata con una adeguata protezione delle vie respiratorie.

Solo per uso diagnostico *in vitro*. I prodotti qui descritti devono essere usati solo in laboratorio, da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni. Sterilizzare le piastre e le provette dopo il loro uso e prima dell'eliminazione come rifiuto.**Bibliografia**

• CLSI Document M22-A3, 2004. Quality Control of Commercially Prepared Microbiological Media: Approved Standard - Third Edition. Vol. 24 No.19

**CONFEZIONI**

Terreno in polvere

**4020052 Sabouraud Dextrose Agar,** 500 g (7.7 L)**4020054 Sabouraud Dextrose Agar,** 5 kg (77 L)

Terreni pronti all'uso

**542005 Sabouraud Dextrose Agar,** 20 piastre diametro 90 mm**492005 Sabouraud Dextrose Agar** 30 piastre diametro 55 mm**5120052 Sabouraud Dextrose Agar,** 6 flaconi da 100 mL**5120053 Sabouraud Dextrose Agar,** 6 flaconi da 200 mL**552005 Sabouraud Dextrose Agar,** 20 provette a becco di clarino