

Clostridios Diferencial Agar

USO

Medio utilizado para el cultivo y recuento de Clostridios sulforreductores en alimentos y otros materiales de importancia sanitaria.

FUNDAMENTO

El medio de cultivo es altamente nutritivo por la presencia de glucosa, tripteína, peptona de carne extracto de carne y extracto de levadura, los cuales permiten el adecuado desarrollo bacteriano.

En esta formulación, el almidón favorece la esporulación de la bacteria, la resazurina es el indicador redox que vira al color rojo a altos potenciales de oxido-reducción indicando condiciones aeróbicas y la cisteína es el agente reductor. El sulfito de sodio y el citrato de hierro y amonio constituyen la fuente y el sistema indicador de la reducción de sulfito por los clostridios sulforreductores. Por reducción del sulfito se genera SH₂, el cual reacciona con los iones Fe³⁺ y se forma un precipitado de color negro. El agar es el agente solidificante.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0220205: envase x 100 g.

Código B0220206: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

TRIPTEÍNA.....	5.0
PEPTONA DE CARNE.....	5.0
EXTRACTO DE CARNE.....	8.0
ALMIDÓN SOLUBLE.....	1.0
GLUCOSA.....	1.0
EXTRACTO DE LEVADURA.....	1.0
CLORHIDRATO DE CISTEÍNA.....	0.5
CITRATO DE HIERRO Y AMONIO.....	1.0
SULFITO DE SODIO.....	0.75
RESAZURINA.....	0.002
AGAR.....	20.0
pH FINAL: 7.6 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 43.3 g del polvo por litro de agua purificada. Mezclar bien. Calentar con agitación frecuente y hervir un minuto. Distribuir en tubos u otros recipientes apropiados y esterilizar 15 minutos a 121 °C.

Es aconsejable usar el mismo día de la preparación.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: beige oscuro, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: ámbar oscuro

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Previo a la inoculación, se recomienda realizar a la muestra un tratamiento térmico a 80 °C durante 10 minutos. Esto favorecerá la esporulación de la bacteria y la disminución o eliminación de la flora competitiva presente.

Luego, sembrar en placas o en tubos:

Siembra en placas: seguir una de estas 2 técnicas:

- **En superficie:** sembrar hasta 0,1 ml de la muestra directa o de la dilución apropiada y esparcirla en el medio de cultivo.

- **En profundidad:** inocular hasta 1 ml de la muestra directa o de la dilución. Verter un volumen del medio de cultivo fundido y enfriado a 40-45°C. Homogeneizar mediante movimientos de vaivén y rotación. Dejar solidificar.

En caso de sembrar en tubos, colocar un tapón de parafina estéril luego de haber inoculado la muestra.

Incubación

En anaerobiosis, a 33-37 °C durante 18-72 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar las características de las colonias y efectuar el recuento microbiano. Los microorganismos productores de SH₂ se observan como colonias de color negro.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO	COLONIAS NEGRAS
Clostridium perfringens ATCC 13124	Satisfactorio	+
Clostridium sporogenes ATCC 19404	Satisfactorio	+
CONTROL DE ESTERILIDAD		RESULTADO
Medio sin inocular		Sin cambios

LIMITACIONES

- Otras bacterias pueden producir SH₂, por eso se sugiere realizar el tratamiento térmico para eliminar las formas vegetativas.
- La presencia de color negro es presuntiva de clostridios sulforreductores. Es necesario realizar pruebas bioquímicas adicionales de identificación bacteriana.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requeri-

miento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

Weenk, G.H., van den Brink, J.A., Struijk, C.B. and Mossel, D.A.A. 1995. Modified methods for the enumeration of spores of Clostridium species in dried foods. Int. J. Food Microbiol. 27, 185-200.
 Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. 2003. Handbook of Culture Media for Food Microbiology, volume 37, Elsevier Science.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
 Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS

							
CÓDIGO Nº	ELABORADOR	ESTÉRIL	Nº DE DETERMINACIONES	LOTE Nº	FECHA DE VENCIMIENTO	LÍMITE DE TEMPERATURA	INSTRUCCIONES DE USO