

D.R.C.M. Caldo (Caldo Diferencial y Reforzado para Clostridios)

USO

Medio utilizado para el cultivo y recuento de anaerobios sulfitorreductores por la técnica del número mas probable (NMP).

Es ampliamente utilizado en el análisis de aguas y alimentos.

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 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.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0223805: envase x 100 g.

Código B0223806: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

| | |
|----------------------------|-------|
| PEPTONA DE CARNE..... | 5.0 |
| TRIPTEÍNA..... | 5.0 |
| EXTRACTO DE CARNE..... | 8.0 |
| EXTRACTO DE LEVADURA | 1.0 |
| ALMIDÓN..... | 1.0 |
| ACETATO DE SODIO | 5.0 |
| GLUCOSA | 1.0 |
| L-CISTEINA | 0.5 |
| SULFITO DE SODIO..... | 0.5 |
| CITRATO DE HIERRO..... | 0.5 |
| RESAZURINA | 0.002 |
| pH FINAL: 7.1 ± 0.2 | |

INSTRUCCIONES

Suspender 27.5 gramos en 1 litro de agua purificada. Dejar reposar 5 minutos. Mezclar y llevar a ebullición con agitación frecuente para disolución completa. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar por autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Si se desea preparar caldo en doble concentración, suspender 55 gramos por litro de agua purificada y seguir las instrucciones indicadas previamente.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

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

Medio de cultivo preparado: color ámbar rojizo.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Inocular el medio de cultivo según la técnica del número mas probable (NMP) y cubrir con una capa de 3 a 5 mm de parafina o vaselina estéril para favorecer la anaerobiosis.

Luego, se recomienda realizar un tratamiento térmico a 75 °C durante 30 minutos para eliminar el oxígeno disuelto y las formas vegetativas.

Incubación

A 33-37 °C, durante 7 días hasta 4 semanas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Examinar el color de los tubos. Los microorganismos productores de SH₂ se observa el medio de color negro.

La presencia de color negro es presuntiva de clostridios.

CONTROL DE CALIDAD

| MICROORGANISMOS | CRECIMIENTO | ENNEGRECIMIENTO |
|---------------------------------------|---------------|-----------------|
| Clostridium sporogenes ATCC 19404 | Satisfactorio | Positivo |
| Clostridium perfringens ATCC 13124 | Satisfactorio | Positivo |
| Escherichia coli ATCC 25922 | Satisfactorio | Negativo |
| Staphylococcus aureus ATCC 25923 | Satisfactorio | Negativo |

| CONTROL DE ESTERILIDAD | RESULTADO |
|------------------------|-------------|
| Medio sin inocular | Sin cambios |

LIMITACIONES

- El crecimiento bacteriano, generalmente se observa a los 3 a 4 días de incubación. Se recomienda dejar los cultivos hasta 4 semanas porque algunas cepas presentan esporas que requieren tiempo para comenzar a germinar.
- Otras bacterias pueden producir SH₂, por eso se sugiere realizar el tratamiento térmico para eliminar las formas vegetativas.
- Examinar el color de los tubos. La presencia de color negro es presuntiva de clostridios. 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 requerimiento.

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

- Gibbs, B.M., Freame, B. 1965. Methods for the recovery of Clostridia from food. J. Appl. Bact, 28: 95-111.
- Freame, B., Fitzpatrick, B.W.F. 1972. The use of D.R.C.M for the isolation and enumeration of Clostridia from food. In "Isolation of Anaerobes." Ed Shapton and Board, Academic Press, London, New York.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, volume 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

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

SÍMBOLOS UTILIZADOS

| | | | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|--|
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| CÓDIGO N° | ELABORADOR | ESTÉRIL | N° DE DETERMINACIONES | LOTE N° | FECHA DE VENCIMIENTO | LÍMITE DE TEMPERATURA | INSTRUCCIONES DE USO |