

Kligler Hierro Agar

IVD

USO

Medio de cultivo frecuentemente usado en microbiología de alimentos para la diferenciación de enterobacterias, en base a la fermentación de hidratos de carbono y a la producción de ácido sulfhídrico.

FUNDAMENTO

En el medio de cultivo, la peptona de carne y la tripteína, aportan los nutrientes adecuados para el desarrollo bacteriano. La lactosa y la glucosa son los hidratos de carbono fermentables. El tiosulfato de sodio es el sustrato necesario para la producción de ácido sulfhídrico, el citrato de hierro y amonio, es la fuente de iones Fe³⁺, los cuales se combinan con el ácido sulfhídrico y producen sulfuro de hierro, de color negro. El rojo de fenol es el indicador de pH, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico. El agar es el agente solidificante.

Por fermentación de azúcares se producen ácidos que se detectan por medio del indicador rojo de fenol, el cual vira al color amarillo en medio ácido. El tiosulfato de sodio se reduce a sulfuro de hidrógeno el que reacciona luego con una sal de hierro proporcionando el típico sulfuro de hierro de color negro.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0223405: envase x 100 g.

Código B0223406: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PEPTONA DE CARNE.....	13.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
LACTOSA.....	10.0
TRIPTEÍNA.....	10.0
GLUCOSA.....	1.0
CITRATO DE HIERRO Y AMONIO.....	0.5
TIOSULFATO DE SODIO.....	0.3
ROJO DE FENOL.....	0.025
AGAR.....	15.0
pH FINAL: 7.3 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 54.8 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Dejar reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente, hervir 1 o 2 minutos hasta disolución total.

Distribuir en tubos, en volumen que ocupe hasta la tercera parte de los mismos. Esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos.

Enfriar y dejar solidificar en posición inclinada (pico de flauta profundo).

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

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

Medio de cultivo preparado: color rojo.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

A partir de un cultivo puro del microorganismo en estudio, con aguja de inoculación inocular el medio de cultivo, picando el fondo y extendiendo sobre la superficie del mismo.

Incubación

En aerobiosis, a 33-37°C durante 18 a 24 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar el color del medio de cultivo y la producción de gas.

1- Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.

2- Superficie ácida/Profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, y lactosa.

3- Superficie alcalina/Profundidad alcalina (pico rojo/fondo rojo): el microorganismo es no fermentador de azúcares.

4- La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.

5- El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	SUPERFICIE/ PROFUNDIDAD	PRODUCCIÓN DE GAS	PRODUCCIÓN DE SH ₂
Escherichia coli ATCC 25922	A/A	+	-
Klebsiella pneumoniae ATCC 700603	A/A	+	-
Proteus mirabilis ATCC 43071	K/A	-	+
Salmonella typhimurium ATCC 14028	K/A	-	+
Shigella flexneri ATCC 12022	K/A	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	K/K	-	-

A: reacción ácida (color amarillo)

K: reacción alcalina (color rojo)

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

- Los resultados de la prueba deber ser leídos luego de 18 a 24 horas de incubación. Si la lectura se efectúa a tiempos menores pueden existir falsos positivos por la presencia de acidez o la acidez generada no sea suficiente para producir el viraje del indicador rojo de fenol del color rojo al amarillo. Si se lee luego de 24 horas se pueden obtener resultados falsos negativos por consumo de peptonas durante el crecimiento de los microorganismos con la consecuente alcalinidad del medio de cultivo.
- Si la generación de SH₂ es elevada puede llevar al ennegrecimiento de todo el fondo del medio de cultivo y dificultar la visualización de la acidez producida. Es necesario aclarar que para que se produzca SH₂ debe existir un ambiente ácido, por eso si no se observa se debe considerar igualmente acidez positiva.
- Para la siembra utilizar aguja de inoculación. No utilizar ansas de inoculación ya que pueden llevar a resultados falsos positivos de producción de gas por alteraciones mecánicas del medio de cultivo.

- La forma de inoculación de este medio de cultivo depende de la técnica utilizada por el profesional. Se puede inocular primero el fondo y luego el pico o de manera opuesta. Esto no afectará los resultados.

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

- Kligler. I. J. 1917. A simple medium for the differentiation of members of the typhoid paratyphoid group. Am. J. Public Health. 7:1042.
- Kligler. I. J. 1918. Modifications of culture media used in the isolation and differentiation of typhoid, dysentery, and allied bacilli. J. Exp.Med. 28:319.
- 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.

AUTORIZACIÓN ANMAT

PM -1292 - 1

Dir. Técnico: Bioq. Alejandro Rossi

03/2021 - REV .02

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE VENCIMIENTO



LÍMITE DE TEMPERATURA



INSTRUCCIONES DE USO