



## ÁGAR RCM (MEIO CLOSTRIDIAL REFORÇADO)

### ENUMERAÇÃO DE ANAERÓBICOS

#### USO

O Ágar RCM (Meio Clostridial Reforçado) é um meio não seletivo usado para cultura, isolamento e contagem de Clostrídios, outros microrganismos anaeróbicos e lactobacilos em amostras biológicas, laticínios e outros alimentos.

#### HISTÓRIA

Este meio foi descrito por Hirsch e Grinstead para o isolamento de *Clostridium butyricum* em meio semissólido. Barnes usou para enumerar *Clostridium* em alimentos. Attenborough e Scarr usaram para enumerar *Clostridium saccharolyticum* em açúcar.

#### PRINCÍPIOS

Este meio não seletivo também permite que estreptococos e lactobacilos se desenvolvam. Os fatores nutricionais são fornecidos pela triptona, extratos de carne, extrato de levedura, glicose e cisteína, que também atua como uma substância redutora. O amido promove o desenvolvimento de esporos. O cloreto de sódio mantém o equilíbrio osmótico.

#### COMPOSIÇÃO TÍPICA

A composição pode ser ajustada para obter um desempenho ideal.

Para 1 litro de meio:

– Triptona .....	10,0 g
– Extrato de carne .....	10,0 g
– Extrato de levedura autolítica .....	3,0 g
– Cisteína (cloridrato) .....	0,5 g
– Glicose .....	5,0 g
– Amido solúvel .....	1,0 g
– Cloreto de Sódio .....	5,0 g
– Acetato de sódio.....	3,0 g
– Ágar bacteriológico .....	15,0 g

pH do meio pronto para uso a 25°C: 6,8 ± 0,2.

#### PREPARAÇÃO

- Suspender 52,5 g de meio desidratado (BK090) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, levar o meio para ferver com agitação até sua completa dissolução.
- Distribuir em tubos ou frascos.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar e manter a 44-47°C.

- Reconstituição:
-------------------

52,5 g/L
----------

- Esterilização:
------------------

15 min a 121°C
----------------

#### INSTRUÇÃO DE USO

- Transferir 1 mL da amostra e suas diluições decimais sucessivas em placas de Petri estéreis.
- Distribuir cerca de 15 mL de meio por placa.



- Homogeneizar perfeitamente e deixar solidificar em superfície fria.
- Incubar as placas em uma jarra, sob condições anaeróbias.
- Incubar a 30, 37 ou 55°C por 1 a 10 dias de acordo com o protocolo analítico utilizado.

- Semear: 1 mL em profundidade
- Incubar: De acordo com o protocolo

## **RESULTADO**

Fazer a enumeração das placas com um número de colônias entre 15 e 150.

## **CONTROLE DE QUALIDADE**

**Meio desidratado:** pó cremoso e homogêneo.

**Meio preparado:** ágar âmbar.

Resultado do cultivo após 48 horas de incubação em condições anaeróbicas a 37°C:

Microrganismos		Crescimento (Razão de produtividade: $P_R$ )
<i>Clostridium perfringens</i>	WDCM 00007	$P_R \geq 70 \%$
<i>Clostridium bifementans</i>	ATCC® 19299	$P_R \geq 70 \%$
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	CNRZ 500	$P_R \geq 70 \%$

## **ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA**

**Meio desidratado:** 2-30°C.

A data de validade é mencionada no rótulo.

## **APRESENTAÇÃO**

**Meio desidratado:**

Frasco de 500 g ..... BK090HA

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Hirsch, A. and Grinsted, E. 1954. Methods for the growth and enumeration of anaerobic sporeformers from cheese, with observations on the effect of nisin. Journal of Dairy Research, 21: 101-110.

Barnes, E.M. and Ingram, M. 1956. The effect of redox potential on the growth of *Clostridium welchii* strains isolated from horse muscle. Journal of Applied Bacteriology, 19: 117-122.

Munoa, F.J. and Pares, R. 1988. Selective medium for isolation and enumeration of *Bifidobacterium* spp. Applied and Environmental Microbiology, 54: 1715-1718.

## **OUTRAS INFORMAÇÕES**

As declarações feitas nas etiquetas têm precedência sobre as fórmulas ou instruções descritas neste documento e estão sujeitos a alterações a qualquer momento sem aviso prévio.

Código do documento: GELOSE RCM HIRSCH GRINSTED\_FR\_V5.

Data de criação: 01-2003

Data de revisão: 03-2016

Motivo da revisão: Revisão geral.