



CALDO RCM (MEIO CLOSTRIDIAL REFORÇADO)

INVESTIGAÇÃO DE CLOSTRÍDIOS

USO

Caldo RCM (Meio Clostridial Reforçado) é um meio não seletivo utilizado para análise de Clostrídios de produtos não estéreis de acordo com a Farmacopeia Europeia.

Pode ser usado para a cultivo e enumeração de esporos de Clostrídios em produtos lácteos, conservas e outros alimentos.

A fórmula padrão do caldo corresponde à composição definida na Farmacopeia Europeia e Americana.

HISTÓRIA

Este meio foi descrito por Hirsch e Grinsted para a enumeração de anaeróbios, mais particularmente *Clostridium butyricum*, pelo método do “número mais provável”.

PRINCÍPIOS

Os fatores nutricionais são fornecidos pelo 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.

O meio é não seletivo. Também permite o cultivo de lactobacilos e muitos outros microrganismos anaeróbicos.

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
– Agar bacteriológico	0,5 g

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

PREPARAÇÃO

- Suspender 38,0 g de meio desidratado (BK094) em 1 litro de água destilada ou desmineralizada.
- Lentamente, levar o meio à fervura com agitação constante até sua completa dissolução.
- Distribuir 10 mL de meio ainda quente, por tubo.
- Esterilizar em autoclave a 121°C por 15 minutos.
- Resfriar à temperatura ambiente.

- Reconstituição: 38,0 g/L

- Esterilização: 15 min a 121°C



NOTA:

Se tiver sido preparado com antecedência, aquecer o meio por 20 minutos a 100°C e depois resfriar à temperatura ambiente.

INSTRUÇÃO DE USO

Detecção de Clostrídios em produtos farmacêuticos:

- Aquecer 10 mL da diluição da amostra por 10 minutos a 80°C, a fim de destruir formas vegetativas e ativar os esporos, depois esfriar rapidamente.
- Não aquecer a segunda parte da diluição do estoque, a fim de encontrar também formas vegetativas.
- Inocular 1 mL de inóculo em cada tubo de meio.
- Incubar em condições anaeróbicas por 48 horas a 30-35°C.
- Realizar subcultura em Columbia Agar (BK019).

- Semear: 1 mL por tubo
- Esterilização: 48h a 30-35°C

NOTA:

Dependendo do protocolo usado, a anaerobiose pode ser obtida adicionando 2 mL de parafina estéril por tubo.

O meio pode então ser usado no método NMP, para a contagem de bactérias anaeróbicas.

RESULTADO

Considerar os tubos que mostrarem crescimento como positivos.

Na presença de parafina, considerar como positivos os tubos que apresentem produção de gás.

CONTROLE DE QUALIDADE

Meio desidratado: pó creme, esbranquiçado e homogêneo.

Meio preparado: semifluido, meio âmbar.

Resultado do cultivo após 24-48 horas de incubação sob condições anaeróbicas a 30-35 °C, inóculo $\leq 10^2$ microrganismos:

Microrganismos		Crescimento
<i>Clostridium sporogenes</i>	WDCM 00008	Positivo

ARMAZENAMENTO / VALIDADE DE PRATELEIRA

Meio desidratado: 2-30°C.

A data de validade é mencionada no rótulo.

APRESENTAÇÃO

Meio desidratado:

Frasco de 500 g BK094HA

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Hirsch, A. and Grinstead, 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.

Gibbs, B.M. and Freame, B. 1965. Methods for the recovery of Clostridia from foods. Journal of Applied Bacteriology, **28**: 95-111.



Pharmacopée Européenne. Chapitre 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles: Recherche de microorganismes spécifiés.

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: BOUILLON RCM_FR_V6.

Data de criação: 04-2001

Data de revisão: 03-2016

Motivo da revisão: Revisão geral.