

Especificación

Caldo de cultivo para verificar la capacidad reductora de nitratos en las enterobacterias.

Presentación

20 Tubos/Tubo Durham
Tubo 16 x 113 mm
con: 10 ± 0,2 ml

Encajado
1 caja de 20 tubos de vidrio de 16x113 mm,
rotulados, con campana de Durham y con tapón
metálico no pinchable.

Caducidad	Almacenamiento
6 meses	8-25°C

Composición

Composición (g/l):

Extracto de carne.....	3,00
Peptona.....	5,00
Nitrato potásico.....	1,00

Descripción/Técnica

Descripción:

El Caldo de Nitrato se ha preparado de acuerdo a la fórmula clásica para el ensayo de reducción de nitratos en enterobacteriáceas, aunque también se puede utilizar con baciláceas aeróbicas y otros tipos fisiológicos bacterianos.

Técnica:

Para el ensayo, se inoculan 2-3 tubos de caldo con un asa de cultivo puro y se incuban a 37±1°C, realizando lecturas a las 18-24 horas, hasta 72h.

La lectura se hace pasado el tiempo de incubación (18-24h), añadiendo unas gotas de cada uno de los reactivos (Nitratos A y B) o mejor de la mezcla de ambos en partes iguales. La aparición de un color rojo cereza se interpreta como reacción positiva. La ausencia de color es indicio presuntivo de reacción negativa. La comprobación se hace añadiendo una punta de espátula de polvo de zinc. La aparición de color rojo es entonces la confirmación de prueba negativa. Si después de la adición de zinc no aparece color, la prueba debe considerarse positiva. Las lecturas negativas a las 24 horas deben repetirse a las 48 y 72 horas en otros tubos antes de considerarse definitivamente negativas.

La inestabilidad del color rojo, que pasa rápidamente a pardo rojizo, se debe a exceso de nitrito, sin que tenga otro efecto sobre la prueba.

La producción de gas en las cepas no fermentadoras suele ser ya un indicio de desnitrificación. En las fermentadoras puede ser simplemente CO₂. En cualquier caso se recomienda la inoculación con campanas de Durham para detectar la producción de gas.

Los ensayos de reducción de nitratos deben hacerse siempre con tubos control sin inocular ya que la contaminación del material con óxido nitroso o nitritos es suficiente para producir falsas reacciones positivas.

Es posible que se generen burbujas de aire en la campana de Durham durante su transporte. Si se observa presencia de burbujas en la campana antes de la inoculación del tubo, se recomienda invertir el tubo hasta la completa eliminación del aire en la campana de Durham. No eliminar el aire de la campana previo a la inoculación puede generar resultados falso positivos en la lectura de producción de gas.

Control de Calidad**Control Físico/Químico**

Color : Amarillo pálido

pH: $7 \pm 0,2$ a 25°C**Control de Fertilidad**

Inocular un cultivo puro

Aerobiosis. Incubación a $35 \pm 2^\circ\text{C}$, lectura a las 18-24 horas**Microorganismo***Salmonella typhimurium* ATCC® 14028, WDCM 00031*Escherichia coli* ATCC® 8739, WDCM 00012*Ps. aeruginosa* ATCC® 27853, WDCM 00025

Tubo sin inocular

Desarrollo

Crecimiento bueno. Nitrato positivo

Crecimiento bueno. Nitrato positivo

Crecimiento bueno. Nitrato positivo

Negativo

Control de Esterilidad

Incubación 48 horas a 30-35°C y 48 horas a 20-25°C: SIN CRECIMIENTO

Verificación a 7 días tras incubación en las mismas condiciones

Bibliografía

- ATLAS, R.M., L.C. PARKS (1993) Handbook of Microbiological Media. CRC Press, Inc. London.
- BLAZEVIC, D.J.(1972) Laboratory Procedures in Diagnostic Microbiology. Telstar Productions Inc., St. Paul, Minn. pg 109.
- BLAZEVIC, D.J. y EDERER G.M. (1975) Principles of Biochemical Tests in Diagnostics Microbiology. John Wiley Sons N.Y.
- DOWNES, F.P. & K. ITO (2001) Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. 4th ed. APHA. Washington.
- FDA (Food and Drug Administrations) (1998) Bacteriological Analytical Manual. 8th ed. Rev. A. AOAC International Inc. Gaithersburg. MD.
- FORBES, B.A., D.F. SAMM y A.S. WEISSFELD (1998) Bailey & Scott's Diagnostics Microbiology. 10th. Ed. Mosby. St. Louis.
- GRIESS, P. (1879) Liebereinige Azoverbindungen. Ber. Deutsch. Chem. Gesellsch. 12:426-427.
- McFADDIN, J.F. (2000) Biochemical Tests for identification of medical bacteria. 3rd. Ed. Lippincott William and Wilkins. Philadelphia.
- WALLACE, G.I.y S.L. NEAVE (1927) The nitrite test as applied to bacterial cultures. J.Bact. 14:377-384.