Base de Agar Clostridium Difficile

Cat. 1447

Para el aislamiento de Clostridium difficile.

Información práctica

Aplicaciones	Categorias
Aislamiento selectivo	Clostridium difficile

Industria: Clínica / Alimentación

Principios y usos

La Base de Agar Clostridium Difficile, cuando se utiliza con suplementos, es un medio selectivo para el aislamiento de Clostridium difficile a partir de alimentos y muestras fecales.

Clostridium difficile se aisló por primera vez del meconio y las heces infantiles en 1935 por Hall y O'Toole, quienes propusieron el nombre de "difficile" ya que resultaba muy difícil de aislar. Keighley asoció Clostridium difficile con enfermedades como la colitis o la diarrea, después de su tratamiento con antibióticos tras diversas operaciones gastrointestinales. En 1979, George et al desarrollaron un medio llamado CCFA (Agar Cicloserina-Cefoxitina-Fructosa), que es un medio sin sangre, basado en el Agar Yema de Huevo de McClung y Toabe, con fructosa como sustituto de la glucosa. La combinación de la Base de Agar Clostridium Difficile con el suplemento se basa en el medio mencionado anteriormente.

Los agentes selectivos D-Cicloserina y Cefoxitina inhiben el crecimiento de la mayoría de las Enterobacteriaceae, así como Enterococcus faecalis, estafilococos, Gram negativos, bacilos anaerobios no formadores de esporas y Clostridia (excepto Clostridium difficile), que puede encontrarse en grandes cantidades en muestras fecales.

La proteonesa de peptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. La fructosa es el carbohidrato fermentable utilizado para mejorar la recuperación y el crecimiento de C. difficile. El dihidrógeno fosfato de potasio y el fosfato de hidrógeno disódico actúan como un sistema tampón. El sulfato de magnesio es un ion requerido en una gran variedad de reacciones enzimáticas, incluida la replicación del ADN. El cloruro de sodio suministra electrolitos esenciales para el transporte y el equilibrio osmótico. La sangre de caballo proporciona factores de crecimiento esenciales. El agar bacteriológico es el agente solidificante.

Fórmula en g/L

Agar bacteriológico	15	Sulfato magnésico	0,1
Dihidrogenofosfato de potasio	1	Cloruro sódico	2
Hidrógeno fosfato disódico	5	Fructosa	6
Proteosa peptona	40		

Preparación

Suspender 34,5 gramos del medio en 500 ml de agua destilada. Mezclar bien y disolver por calentamiento agitando con frecuencia. Hervir durante un minuto hasta su completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121 ºC durante 15 minutos. Enfriar a 45-50 ºC y agregar asépticamente un vial de Suplemento Clostridium Difficile (Cat. 6061), previamente reconstituido en 5 ml de agua destilada estéril y 7% de sangre de caballo desfibrinada estéril. Homogeneizar suavemente y dispensar en placas de Petri. Tener cuidado de evitar la formación de burbujas al agregar la sangre y girar el frasco o la botella lentamente para crear una solución homogénea.

Se puede utilizar sangre de oveja en lugar de sangre de caballo, pero algunas cepas mostrarán una recuperación ligeramente reducida.

Instrucciones de uso

- En una placa de Petri, agregar 12-15 ml de agar fundido y dejar que solidifique.
- Inocular ligeramente el medio con la muestra fecal extendiendo 10 µl del inóculo original para obtener colonias bien separadas.
- Incubar las placas a 35-37 ºC durante 18-48 horas en una jarra anaeróbica convencional.
- Las colonias de Clostridium difficile, después de 48 horas de incubación, son de 4 a 6 mm de diámetro, opacas, con relieve, y de color gris-blanco.

Control de calidad

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Solubilidad	Apariencia	Color del medio deshidratado	Color del medio preparado	Final pH (25ºC)
Sin restos	Polvo fino	Beige	Marrón (tras añadir la sangre)	7,4±0,2

Test microbiológico

Condiciones de incubación: (35-37 ºC / 18-48 h).

Microrganismos	Especificación
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición total
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Inhibición total
Clostridium difficile ATCC 9689	Buen crecimiento

Almacenamiento

Temp. Min.:2 ºC
Temp. Max.:25 ºC

Bibliografía

George W. L., Sutter V.L., Goldstein E.C.J., Ludwig S.L and Finegold S.M (1978) Lancet. i. 802-803
Hall I. and O'Toole E. (1935) am. J. Dis. Child. 49. 390.
Keighley M.R.B, Burdon D.W., Alexander Williams J. et al (1978) Lancet ii. 1165-1167.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS