



Caramuel 38, 28011 Madrid • Tel. 91 464 94 50 - 91 464 36 00
Fax. 91 464 62 58 • www.f-soria.es

FICHA TÉCNICA: 770750

Rev. : Septiembre/2009

Producto: **CLOSTRIDIUM DIFFICILE SELECTIVE AGAR**
PLACA DE 90 mm

USO

El Clostridium Difficile Selective Agar, es un medio selectivo y diferencial para aislamiento primario de Clostridium difficile de muestras fecales .

PRINCIPIO

El Clostridium difficile es el agente causante más común de las colitis asociadas a antibióticos y colitis pseudomembranosas. En 1979 George y cols. desarrollaron un medio denominado CCFA (Cicloserina-Cefoxitina- Fructosa Agar) basado en el EggYolk Agar, donde se había reemplazado la Glucosa por Fructosa.

Posteriormente la formulación del CCFA se modificó en las concentraciones de Cicloserina y Cefoxitina, y diferentes alteraciones de la formulación han sido descritas para el cultivo del C. difficile, incluyendo la adición de suero de caballo, Taurocolato Sódico, y reemplazo de la Fructosa por Manitol, dado que el Manitol es utilizado por menos especies de Clostridium que la Fructosa, favoreciendo la recuperación del C. difficile.

La formulación del presente medio, permite las mayores recuperaciones de C. difficile y la inhibición de la flora acompañante, con respecto al original CCFA.

La presencia del Rojo neutro, en el crecimiento del C. difficile permite ponerlo de evidencia por un cambio de pH y por tanto cambio de color a amarillo.

Este medio consigue estimular el crecimiento del C. difficile mediante las fuentes de nitrógeno de las peptonas y de azúcares del Manitol. Los aminoácidos presentes en el medio son utilizados por el C. difficile se incrementa el pH , pasando el medio y las colonias de rosa a amarillo.

La Cefoxitina y la Cicloserina, son agentes inhibidores de la flora fecal normal, con actividad frente a aeróbicos, anaeróbicos y anaeróbicos facultativos.

COMPOSICION POR LITRO DE MEDIO EN AGUA PURIFICADA

Hidrolizado péptico de tejidos animales	32.0 g
Manitol	6.0 g
Fosfato monopotásico	1.0 g
Fosfato disódico	5.0 g
Cloruro sódico	2.0 g
Factores de crecimiento	3.3 g
Sulfato magnésico	0.1 g
Agar	20.0 g
Rojo neutro	0.03 g
Cicloserina	0.25 g
Cefoxitina	0.016 g

pH : 7,4 +/- 0,2

PRECAUCIONES

Este producto es para uso exclusivo de profesionales.

No debe ser utilizado en caso de presentar contaminación microbiana, decoloración , signos de deshidratación, roturas u otros signos de deterioro.

Utilizar bajo procedimientos de laboratorio , siempre como material biopeligroso.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Una vez recibidas en el laboratorio, almacenar en lugar oscuro y seco a una temperatura de 8 °C, en su embalaje original hasta el momento de uso.

Evitar la congelación y el sobrecalentamiento, así como las variaciones bruscas de temperatura.

Las placas deben estar a temperatura ambiente antes de ser inoculadas.

No deben utilizarse con posterioridad a la fecha de caducidad.

Las bolsas deben ser abiertas cuando vayan a ser utilizadas, una vez abiertas las que no se utilicen deberán mantenerse en áreas limpias y refrigeradas.

CONTROL DE CALIDAD

Estas placas han sido inoculadas con la cepas que a continuación se indican, incubadas de 35 a 37 °C en atmósfera anaeróbica y examinadas transcurridas de 48 a 72 horas de la inoculación, observándose los siguientes crecimientos ,como procedimiento de control de calidad.

Cepas	Resultados de crecimiento
Clostridium difficile ATCC 9689	Crecimiento bueno, colonias de color amarillo pálido a amarillo, con fluorescencia a la longitud de onda U.V
Clostridium perfringens ATCC 13124	Inhibición completa
Proteus mirabilis ATCC 12453	Inhibición completa
Escherichia coli ATCC 25922	Inhibición completa
Sin inocular	Rosas

CARACTERISTICAS y LIMITACIONES DE USO

Las colonias de *C. difficile* pueden presentar una zona alrededor de la colonia de color amarillo de dos a tres milímetros dependiendo del tamaño de la colonia y el tiempo de incubación. Cuando las colonias se exponen a la atmósfera normal, puede cambiar el color a rosa y disminuir su fluorescencia a la luz ultravioleta.

Algunos microorganismos anaeróbicos facultativos pueden producir reacciones similares al *C. difficile*, de forma que se aconseja realizar un cultivo en paralelo en un medio adecuado en condiciones aeróbicas, con el objeto de asegurar que las colonias aisladas corresponden a un anaerobio estricto.

Para la completa identificación del *C. difficile* son necesarias pruebas complementarias, tinción de Gram, análisis de morfología celular, sensibilidad al oxígeno, sensibilidad a antibióticos.

Algunas otras especies de *Clostridium* (*butyricum*, *histolyticum*, *innocuum*, *sordellii* y *subterminales*), pueden crecer en este medio produciendo colonias amarillas con fluorescencia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Bartlett, J.G., T.W. Chang, M. Gurwith, S.L. Gorbach, and A.B. Onderdonk. 1978. Antibiotic-associated pseudomembraneous colitis due to toxin-producing clostridia. *N. Engl. J. Med.* 298:531-534.
2. Koransky, J.R., S.D. Allen, and V.R. Dowell, Jr. 1978. Use of ethanol for isolation of spore forming microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 35:762-765.
3. Kafiz, S., and C.L. Oakley. 1976. *Clostridium difficile*: isolation and characteristics. *J. Med. Microbiol.* 9:129-137.
4. Willey, S.H., and J.G. Bartlett. 1979. Cultures for *Clostridium difficile* in stools containing a cytotoxin neutralized by *Clostridium sordellii* antitoxin. *J. Clin. Microbiol.* 10:880-884.
5. George, W.L., V.L. Sutter, D. Citron, and S.M. Finegold. 1979. Selective and differential medium for isolation of *Clostridium difficile*. *J. Clin. Microbiol.* 9:214-219.
6. Wust, J., N.M. Sullivan, U. Hardegger, and T.D. Wilkins. 1982. Investigation of an outbreak of antibiotic-associated colitis by various typing methods. *J. Clin. Microbiol.* 16:1096-1101.
7. Dowell, V.R., Jr. 1981. Media for the selective isolation of *Clostridium difficile*. *Les Anaerobes Microbiologie-Pathologie. Symposium International.* New York.
8. Isenberg, H.D., F.D. Schoenkecht, and A. von Graevenitz. 1979. Cumitech 9, Collection and processing of bacteriological specimens. Coordinating ed., S.J. Rubin. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Miller, J.M., and H.T. Holmes. 1995. Specimen collection, transport, and storage,

- p. 19-32. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved Guideline M29-A2. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections, 2nd ed. NCCLS, Wayne, Pa.
11. Garner, J.S. 1996. Hospital Infection Control Practices Advisory Committee, U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention. Guideline for isolation precautions in hospitals. Infect. Control Hospital Epidemiol. 17:53-80.
12. U.S. Department of Health and Human Services. 1999. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories, HHS Publication (CDC), 4th ed. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
13. Directive 2000/54/EC of the European Parliament and of the Council of 18 September 2000 on the protection of workers from risks related to exposure to biological agents at work (seventh individual directive within the meaning of Article 16(1) of Directive 89/391/EEC). Official Journal L262, 17/10/2000, p. 0021-0045.
14. Allen, S.D., J.A. Siders, and L.M. Marler. 1985. Isolation and examination of anaerobic bacteria, p. 413-433. In E.H. Lennette, A. Balows, W.J. Hausler, Jr., and H.J. Shadomy (ed.), Manual of clinical microbiology, 4th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
15. Martin, W.J. 1971. Practical method for isolation of anaerobic bacteria in the clinical laboratory. Appl. Microbiol. 22:1168-1171.
16. George, W.L., R.D. Rolfe, and S.M. Finegold. 1982. *Clostridium difficile* and its cytotoxin in feces of patients with antimicrobial-associated diarrhea and miscellaneous conditions. J. Clin. Microbiol. 15:1049-1053.
17. Baron, E.J., Assessment of currently available laboratory tests for *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Clin. Microbiol. Newsl. 11:118-120.
18. Dowell, V.R., Jr., and T.M. Hawkins. 1987. Laboratory methods in anaerobic bacteriology. CDC laboratory manual. HHS Publication No. (CDC) 87-8272. Centers for Disease Control, Atlanta.
19. Holdeman, L.V., E.P. Cato, and W.E.C. Moore (ed.). 1977. Anaerobe laboratory manual, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg.
20. Rodloff, A.C., P.C. Applebaum, and R.J. Zabransky. 1991. Cumitech 5A, Practical anaerobic bacteriology. Coordinating ed., A.C. Rodloff, American Society for Microbiology, Washington, D.C.
21. Summanen, P., E.J. Baron, D.M. Citron, C.A. Strong, H.M. Wexler, and S.M. Finegold. 1993. Wadsworth anaerobic bacteriology manual, 5th ed. Star Publishing Co., Belmont, Calif.
22. Forbes, B.A., D.F. Sahm, and A.S. Weissfeld. 1998. 1994. Bailey & Scott's diagnostic microbiology, 10th ed. Mosby, Inc., St. Louis.
23. Allen, S.D., C.L. Emery, and J.A. Siders. 1999. *Clostridium*, p. 654-671. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

PRESENTACION Y NUMERO DE CATÁLOGO

Número de catálogo: 770750

Presentación: caja conteniendo 20 placas de medio listo para su uso



Caramuel 38, 28011 Madrid
Tel. 91 464 94 50 - 91 464 36 00
Fax. 91 464 62 58 • www.f-soria.es