

## *C. difficile* Medium

### DM254

#### Uso previsto

Un medio basal para el aislamiento selectivo de *C. difficile*.

#### Contenido

Ver etiqueta del envase.

#### Formulación\*

	Concentración del medio:
Mezcla de peptona	30.5g/litreo
Extracto de levadura	1.0g/litro
Enzima caseína hidrolizada	8.5g/litro
Fructosa	6.0g/litro
Cloruro de sodio	5.0g/litro
Fosfato de potasio dihidrógeno	0.1g/litro
Fosfato disodio de hidrógeno	0.5g/litro
Sulfato de magnesio	0.12g/litro
Agar	12.0g/litro
pH final: 7.4 ± 0.2	

#### Almacenamiento y caducidad

Todos los contenedores de medios de cultivo deshidratados deben permanecer herméticamente cerrados y almacenados en un lugar seco a 10 a 25°C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.

#### Precauciones

Exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*. Respetar las precauciones de seguridad y utilizar técnicas asépticas. Debe ser utilizado solo por personal de laboratorio cualificado y con experiencia. Antes del desecho, esterilizar todo el material biológico. Referirse a la hoja de seguridad del producto (disponible si se requiere o a través de la página web de MAST®).

#### Materiales requeridos pero no proporcionados

Accesorios y productos para análisis microbiológico y equipos como por ejemplo: lazos, suplementos selectivos MAST®, hisopos, palillos aplicadores, incineradores e incubadores, etc.. así como reagentes bioquímicos y aditivos como sangre).

#### Procedimiento

1. Referirse a la etiqueta del envase para volúmenes y cantidades requeridas. Preparar MAST® *C. difficile* Medium (DM254D) suspendiendo los polvos en agua destilada o desionizada. Para los envases de sobre, disolver el contenido entero del sobre en el volumen mostrado en la etiqueta.
2. Autoclave a 121°C (15 p.s.i.) durante 15 minutos.
3. Dejar enfriar a 50 a 55°C, y mantener a esta temperatura en una cubeta.

4. Añadir *C. difficile* MAST® SELECTAVIAL (SV23 series) como se especifica y mezclar uniformemente.
5. Poner un suplemento en el medio del 5 a 7% de sangre desfibrinada y estéril de caballo y mezclar bien.
6. Verter en las placas de cultivo (15 a 20ml por cada placa) y dejar solidificar.
7. Las placas de cultivo preparadas deben de usarse inmediatamente o almacenarse en posición vertical en bolsas de plástico a 2 a 8°C hasta un máximo de dos semanas antes de su uso.
8. Inocular las placas directamente con muestras de heces o después del enriquecimiento, mediante el plating en superficie, rayando hacia fuera para buscar colonias simples.
9. Incubar las placas anaerobicamente a 37°C durante 24 a 48 horas.

#### Interpretación de resultados

Después de la incubación, registrar el crecimiento de microorganismos. Las colonias de *C. difficile* crecerán de 4 a 6mm de diámetro tras 48 horas de incubación, apareciendo de color amarillo. El medio que rodea inmediatamente a la colonia a menudo se volverá naranja debido a la pigmentación. Tras 24 horas las colonias de *C. difficile* pueden ser distinguidas de otros microorganismos que ocasionalmente crecen en el medio.

#### Control de calidad

Comprobar si hay signos de deterioro. Se recomienda que el control de calidad se lleve a cabo con al menos un microorganismo que demuestre una reacción esperada. No usar el producto si la reacción con el microorganismo de control es incorrecta. La lista de abajo ilustra una variedad de actuaciones de las cepas de control de uso rutinario, que el usuario final puede obtener fácilmente.

Microorganismos	Resultado
<i>C. difficile</i> ATCC® 9689	Positivo
<i>C. perfringens</i> ATCC® 13124	Negativo
<i>Escherichia coli</i> ATCC® 25922	Negativo
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC® 29212	Negativo

#### Referencias

Bibliografía disponible si se requiere.