

Agar chromID® C. difficile (CDIF)



ZASTOSOWANIE

Podłoże chromogenne do wykrywania i identyfikacji bakterii *Clostridium difficile*. To podłoże nie umożliwia rozróżniania toksynogennych i nietoksynogennych szczepów *C. difficile*.

Jest to wybiórcze podłoże chromogenne do wykrywania i identyfikacji bakterii *Clostridium difficile* w próbkach kału od pacjentów z objawami infekcji.^{1,2}

W połączeniu z dodatkowymi testami do wykrywania toksyn bakterii *C. difficile* podłoże wspomaga diagnostykę i nadzór epidemiologiczny infekcji bakterią *C. difficile*.³

Bakteria *Clostridium difficile* jest odpowiedzialna za rzekomobłoniaste zapalenie okrężnicy oraz, ogólnie, za biegunki szpitalne lub związane z podawaniem antybiotyków.^{4,5,6,7,8}

Podłoże to może też być stosowane na potrzeby kontroli środowiska.⁹

WYJAŚNIENIE I ZASADA

Podłoże to składa się z bogatej pożywki zawierającej różnego typu peptony oraz taurocholan, który wspiera proces rozwoju spor.¹⁰

Zawiera ono także substrat chromogeny¹¹ (złożony wniosek patentowy) oraz mieszaninę antybiotyków, które umożliwiają:

- wykrycie i identyfikację szczepów *C. difficile* wytwarzających β -glukozydazę dzięki charakterystycznemu zabarwieniu kolonii (szare do czarnego).
- zahamowanie wzrostu większości bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, drożdżaków i pleśni.

SKŁAD PODŁOŻA

Teoretyczna zawartość składników.

Podłoże to zostało dostosowane i/lub uzupełnione zgodnie z wymaganymi kryteriami:

Pepton mięsny (wieprzowy)	8 g
Taurocholan (wołowy)	1 g
Ekstrakt drożdżowy	3,5 g
Chlorek sodu	6 g
Mieszanina wybiórcza	0,27 g
Mieszanina chromogenna	0,3 g
Agar	13 g
Oczyszczona woda	1 l
pH 7,6	

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Do diagnostyki *in vitro* i kontroli mikrobiologicznej.
- Wyłącznie do zastosowania profesjonalnego.
- Dotyczy wyłącznie terytorium Stanów Zjednoczonych: Przestroga: Prawo federalne Stanów Zjednoczonych dopuszcza sprzedaż tego wyrobu wyłącznie licencjonowanym lekarzom lub na ich zlecenie.
- Produkt zawiera materiały pochodzenia zwierzęcego. Świadectwo pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantuje w pełni nieobecności czynników chorobotwórczych. Dlatego z produktem należy obchodzić się zgodnie z zasadami postępowania z materiałem potencjalnie zakaźnym (nie spożywać i nie wdychać).
- Wszystkie próbki, hodowle bakteryjne i wykorzystane produkty są potencjalnie zakaźne i powinny być traktowane zgodnie z zalecanymi środkami ostrożności. Należy stosować techniki aseptyczne i zwykłe procedury obowiązujące przy pracy ze szczepami bakteryjnymi. Zgodnie z „CLSI® M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections (Ochrona pracowników laboratoryjnych przed zakażeniami nabytymi w miejscu pracy); Zatwierdzone wytyczne — Bieżąca wersja”. Dodatkowe środki ostrożności zawarte są w „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH (Bezpieczeństwo biologiczne w laboratoriach

mikrobiologicznych i biomedycznych, Centrum Zwalczania i Zapobiegania Chorób/Narodowy Instytut Zdrowia) — Ostatnie wydanie” lub regulowane przepisami właściwymi dla poszczególnych państw.

- Podłoży nie wolno używać jako materiału lub składników do produkcji.
- Nie używać odczynników przeterminowanych.
- Nie używać odczynników, jeśli opakowanie jest uszkodzone.
- Nie wolno używać płytek zanieczyszczonych lub zawierających nadmierną ilość wilgoci.
- Osoby z zaburzeniami percepcji kolorów mogą mieć problemy ze stosowaniem podłoża.
- Obecność w agarze strąków i/lub jasnej otoczki nie zmieniają właściwości podłoża.
- Odczyt i interpretacja na podłożu powinny być wykonywane przy użyciu pojedynczych kolonii.
- W interpretacji wyników testu trzeba bezwzględnie wziąć pod uwagę historię choroby pacjenta, aspekty makro- i mikroskopowe oraz, jeśli będzie konieczne, wyniki innych przeprowadzonych testów.

ODCZYNNIKI I WYPOSAŻENIE WYMAGANE NIENALEŻĄCE DO ZESTAWU

- Mikrobiologiczny sprzęt laboratoryjny ogólnego zastosowania.
- Inkubator bakteriologiczny.
- GENbox anaer (ref. 96124) z pojemnikiem do hodowli.
- GENbag anaer (ref. 45534).

lub

- Inkubator z termoregulacją i kontrolowaną atmosferą.

WARUNKI PRZECHOWYWANIA

- Płytki przechowywać w pudełku, w temperaturze +2 °C/+8 °C do upłynięcia daty ważności.
- Jeśli płytki nie są przechowywane w pudełku, mogą pozostawać przez 2 tygodnie w ciemności w temperaturze +2 °C/+8 °C w opakowaniach celofanowych.

MATERIAŁ DO BADAŃ

Do użycia w procedurach diagnostycznych:

Podłoże należy posiać bezpośrednio materiałem pochodzącym z luźnego lub płynnego (biegunkowego) stolca.

Próbka może zostać poddana (lub nie) działaniu etanolu.¹²

Należy przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej dotyczących pobierania i transportu, przystosowując je do wymagań bakterii beztlenowych.

Do zastosowań na potrzeby kontroli środowiska:

Agar chromID® C. difficile można również wykorzystać do kontroli środowiska.

PROCEDURA:

Do użycia w procedurach diagnostycznych:

1. Doprowadzić odczynniki do temperatury pokojowej.
2. Posiać materiał natychmiast po otrzymaniu.
3. Umieścić podłoże w atmosferze beztlenowej. Jeśli jest to konieczne należy użyć generatora kontrolowanej atmosfery.
4. Inkubować płytki odwrócone przykrywką do dołu w temperaturze +37 °C.
5. Sprawdzić hodowlę po 24 godzinach inkubacji.

Do stosowania w kontroli środowiska:

Należy zapoznać się z instrukcjami użytkowania dostępnymi w piśmiennictwie.⁹

WYNIKI I INTERPRETACJA

- Po inkubacji należy obserwować wzrost drobnoustrojów i obecność typowych kolonii: Kolonie *Clostridium difficile* mają kolor szary do czarnego i nieregularne lub gładkie obrzeże.
- Należy wykonać odpowiednie oznaczenia próbki w celu potwierdzenia infekcji bakterią *Clostridium difficile*.^{8,13}
- Jeśli próbka nie została poddana działaniu etanolu, to w celu potwierdzenia identyfikacji można wykonać odpowiednie dodatkowe testy.¹³

KONTROLA JAKOŚCI

Protokół:

Właściwości podłoża można sprawdzić za pomocą następującego szczepu:

- *Clostridium difficile* ATCC® BAA2155™
(odpowiednik szczepu CCUG 60276)

Zakres spodziewanych wyników:

Szczep	Wynik w +37 °C	
<i>Clostridium difficile</i> ATCC® BAA2155™ Inkubacja w atmosferze beztlenowej	Wzrost po 24 godzinach	Kolor szaro- czarny

Uwaga

Obowiązkiem użytkownika jest prowadzenie kontroli jakości, biorąc pod uwagę zamierzony sposób wykorzystania podłoża i zgodność z lokalnymi przepisami (częstotliwość, liczba szczepów, temperatura inkubacji itd.).

OGRANICZENIA METODY

- Niektóre bezbarwne kolonie z nieregularną lub gwiaździstą krawędzią bądź o wyglądzie matowego szkła mogą okazać się izolatami bakterii *C. difficile*. Należy przeprowadzić odpowiednie dodatkowe testy, aby potwierdzić identyfikację.
- Na podłożu może być obserwowany słaby wzrost mikroorganizmów innych niż *C. difficile*, tworzących kolonie o charakterystycznym kolorze: *C. tertium*, *C. clostridioforme*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*.
- Kolonie wyhodowane na agarze chromID® C. difficile nie mogą być używane do oznaczeń na kartach identyfikacyjnych VITEK®2 ANC ani na paskach ATB™ do oceny lekowrażliwości drobnoustrojów beztlenowych (tendencja do ogólnie zawyżanej oporności). Zalecane jest wykonanie przesiewu na podłożu niewybiórcze.
- Wzrost zależy od indywidualnych wymagań każdego z drobnoustrojów. Może zdarzyć się, że jakiś szczep *C. difficile* o specyficznych wymaganiach (substrat, temperatura, warunki inkubacji itp.) nie wyrośnie.
- Zidentyfikowanie obecności bakterii *Clostridium difficile* przy użyciu tego podłoża nie potwierdza występowania szczepu toksynogennego. Konieczne jest przeprowadzenie dodatkowych testów w celu potwierdzenia występowania toksynogennych bakterii *C. difficile*.

WIARYGODNOŚĆ

Ocena przeprowadzona została w 2 ośrodkach (Hiszpania i Niemcy) przy użyciu próbek klinicznych.

Na agarze chromID® C. difficile oraz na podłożach tradycyjnych (w przypadku których zalecany czas inkubacji wynosił 48 godzin) posiano 737 próbek (luźny lub płynny (biegunkowy) stolec).

Próbki kału były posiewane albo bezpośrednio (n=474), albo po poddaniu ich działaniu etanolu (n=263).

Próbki posiewane bezpośrednio (bez poddawania ich działaniu etanolu):

Spośród 474 badanych próbek 78 potwierdzono jako dodatnie na obecność *C. difficile* metodą PCR.

	Odzysk % (*)	Czułość (%)
chromID® C. difficile 24 godziny	99 (72/73*)	92 (72/78)
Inne podłoże hodowlane 48 godzin	55 (40/73*)	51 (40/78)

* Liczba próbek oznaczonych jako dodatnie / Liczba próbek oznaczonych jako dodatnie po 24 godzinach na agarze chromID® C. difficile i/lub po 48 godzinach na innym podłożu.

Specyficzność agaru chromID® C. difficile (24 godziny) oraz innego podłoża (48 godzin) wynosiła odpowiednio 88% i 90%.

Próbki posiewane po poddaniu ich działaniu etanolu:

Spośród 263 oznaczanych próbek 41 potwierdzono jako dodatnie na obecność *C. difficile* metodą PCR.

	Odzysk % (*)	Czułość (%)
chromID® C. difficile 24 godziny	89 (33/37*)	80 (33/41)
Inne podłoże hodowlane 48 godzin	81 (30/37*)	73 (30/41)

* Liczba próbek oznaczonych jako dodatnie / Liczba próbek oznaczonych jako dodatnie po 24 godzinach na agarze chromID® C. difficile i/lub po 48 godzinach na innym podłożu.

Specyficzność agaru chromID® C. difficile (24 godziny) oraz innego podłoża (48 godzin) wynosiła odpowiednio 98% i 93%.

UTYLIZACJA ODPADÓW

Niezużyte odczynniki mogą być traktowane jako odpady niestwarzające ryzyka i odpowiednio utylizowane.








Zużytych odczynników, jak i zanieczyszczonych sprzętów jednorazowych, należy pozbywać się zgodnie z procedurami dla materiałów zakaźnych lub potencjalnie zakaźnych.





Obowiązkiem każdego laboratorium jest pozbywanie się zużytych testów i wytworzonych ścieków w zależności od ich typu i stopnia zabezpieczenia laboratorium oraz dezynfekowanie ich i usuwanie (zlecenie dezynfekcji i usuwania) zgodnie z zatwierdzonymi procedurami.

LITERATURA

1. CROBACH M.J.T. et al. - European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID): Data review and recommendations for diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI) - *Clin Microbiol Infect.*, 2009; vol. 15, p. 1053-1066.
2. DELMEE M. et al. - Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea: a plea for culture. - *J Med Microbiology* - 2005; vol. 54, p.187-191 Microbiology unit, Louvain University, Brussels, Belgium.
3. STUART H. et al. - Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infection Diseases Society of America (IDSA). - *Infect Control Hosp Epidemiol* - 2010, vol. 31, p. 431-455.
4. BARTLETT J.G., GERDING D. - Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection - *Clin Infect Dis.* - 2008; vol. 46, p. S12-S18.
5. DELMEE M., WAUTERS G. - Rôle de *Clostridium difficile* dans les diarrhées survenant après antibiothérapie: étude de 87 cas. - *Acta Clin. Belg.*, 1981, vol. 36, n°4, p. 178-184.
6. GERDING D.N., OLSON M.M., PETERSON L.R. et al. - *Clostridium difficile* - associated diarrhea and colitis in adults - *Arch. Intern. Med.*, 1986, vol. 146, n° 1, p. 95-100.
7. Mac GOWAN K.L., KADRE H.A. - *Clostridium difficile* infection in children - *Clinical Microbiology newsletter*, 1999, vol. 21, n° 7, p. 49-53.
8. RILEY T.V., BOWMAN A., CARROLL S.M. - Diarrhoea associated with *Clostridium difficile* in a hospital population - *Med. J. Aust.*, 1983, vol. 1, n° 4, p. 166-169.
9. HILL K. A., COLLINS J., WILSON L. et al. - Comparison of two selective media for the recovery of *Clostridium difficile* from environmental surfaces - *Journal of Hospital Infection*, 2013, vol. 83, p. 164-166.
10. ROUSSEAU C. et al. - Comparaison de trois milieux pour la culture de *Clostridium difficile* : intérêt des milieux favorisant la germination des spores ? - *Pathol Biol (Paris)*, 2009, doi :10.1016/j.patbio.2009.07.001.
11. PERRY D. J. et al. - Evaluation of a Chromogenic Culture Medium for isolation of *Clostridium difficile* within 24 hours. - *Journal of clinical microbiology* - 2010, p. 3852-3858.
12. RILEY T. V. et al. - Comparison of alcohol shock enrichment and selective enrichment for the isolation of *Clostridium difficile*. - *Epidemiol. Infect.* - 1987, vol. 99, p. 355-359.
13. Statement - NA - 43871 - Certificate of compatibility.pdf. <http://www.biomerieux.com/techlib>. NOTE: not available in the US.

TABELA SYMBOLI

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>In Vitro</i>
	Producent
	Przestrzegać zakresu temperatury
	Użyć przed
	Kod partii
	Sprawdź w instrukcji użycia.

Symbol	Znaczenie
	Wystarczy na wykonanie <n> testów
	Chronić przed światłem
	Dotyczy wyłącznie terytorium Stanów Zjednoczonych: Przestroga: Prawo federalne Stanów Zjednoczonych dopuszcza sprzedaż tego wyrobu wyłącznie licencjonowanym lekarzom lub na ich zlecenie
	Data produkcji

OGRANICZONA GWARANCJA

Firma bioMérieux gwarantuje poprawne działanie produktu zgodnie z jego wskazanym zastosowaniem, pod warunkiem ścisłego przestrzegania wszelkich procedur użycia, przechowywania i obsługi, czasu przydatności do użycia (jeśli dotyczy) oraz środków ostrożności opisanych w instrukcji użycia (IFU).

Z wyjątkiem wyraźnie określonej gwarancji, wskazanej powyżej, firma bioMérieux niniejszym wyłącza wszelkie gwarancje, w tym wszelkie domniemane gwarancje przydatności handlowej i przydatności do określonego celu lub zastosowania, oraz wyłącza wszelką odpowiedzialność, bezpośrednią, pośrednią lub wynikową, za jakiegokolwiek użycie odczynnika, oprogramowania, urządzenia i materiałów eksploatacyjnych („System”) w sposób inny niż wskazano w instrukcji użycia (IFU).

OPAKOWANIE

Podłoża gotowe do użytku

REF	Jednostki/Opakowanie	Rozmiar płytki	Nazwa skrócona (wydrukowano na każdej płytce)
43871	płytki 2×10	90 mm	CDIF

HISTORIA ZMIAN

Kategorie typów zmian

nd.	Nie dotyczy (pierwsze wydanie)
Poprawka	Poprawka nieprawidłowości w dokumentacji
Zmiana techniczna	Uzupełnienie, korekta i/lub usunięcie informacji dotyczących produktu
Zmiana administracyjna	Wdrożenie zmian innych niż techniczne, istotnych dla użytkownika

Uwaga: Historia zmian nie zawiera drobnych zmian graficznych, gramatycznych oraz dotyczących formatowania.

Data wydania	Numer partii	Typ zmiany	Podsumowanie zmiany
2017-03	046206-01	Zmiana administracyjna	Zmiany formatu i sposobu zapisu treści Zaktualizowane części: Ostrzeżenia i środki ostrożności / Odczynniki i wyposażenie wymagane nienależące do zestawu / Utylizacja odpadów / Wyniki i interpretacja / Literatura / Tabela symboli / Ograniczona gwarancja / Historia zmian
		Zmiana techniczna	Zastosowanie / Skład podłoża / Ostrzeżenia i środki ostrożności / Materiał do badań / Procedura: / Ograniczenia metody / Literatura

BIOMERIEUX, jego niebieskie logo, ATB, CHROMID i VITEK są znakami towarowymi używanymi, w trakcie rejestracji i/lub zastrzeżonymi, należącymi do bioMérieux, jednego z jego podmiotów zależnych lub jednej z jego firm.

CLSI jest znakiem towarowym należącym do Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Znak towarowy ATCC i nazwa handlowa oraz wszelkie numery katalogowe ATCC są znakami towarowymi należącymi do American Type Culture Collection.

Wszelkie inne nazwy i znaki handlowe należą do odpowiednich właścicieli.