

CHROMagar C. difficile

NOTICE D'UTILISATION POUR LES MILIEUX PRECOULES PRETS A L'EMPLOI

1. Utilisation

CHROMagar *C. difficile* est un milieu chromogène sélectif pour la détection qualitative et l'isolement sélectif des bactéries *Clostridioides difficile* dans les échantillons de selles humaines et autres échantillons.

La fonction du milieu CHROMagar *C. difficile* est de soutenir le diagnostic des patients présentant des symptômes indiquant une infection potentielle à *Clostridioides difficile*, ainsi que les tests de dépistage.

Clostridioides difficile est à l'origine de la colite pseudomembraneuse post-antibiotique, ainsi que de diarrhées plus légères associées à l'utilisation d'antibiotiques. Il est à l'origine de 25 % des cas de diarrhée de ce type. Ces maladies surviennent le plus souvent chez des patients soumis à une antibiothérapie à large spectre de longue durée. La destruction d'une grande partie de la population de bactéries qui composent le microbiome intestinal, qui peut se produire en raison de l'utilisation prolongée d'antibiotiques, crée des conditions optimales pour la prolifération des bactéries dans l'intestin. Cela crée des conditions optimales pour la prolifération des souches de *C. difficile*, qui peuvent inclure des sérotypes toxigènes. Le *C. difficile* est généralement présent en petites quantités en tant que composant du microbiome chez environ 3 à 5 % des adultes et chez environ 50 % des nourrissons, sans provoquer de symptômes pathologiques dans des conditions saines. Les maladies causées par *C. difficile* résultent généralement d'infections nosocomiales. Ces infections sont généralement endogènes, mais elles peuvent aussi être exogènes et résulter de la transmission de la souche toxigène du bacille ou de ses spores par le personnel médical ou par d'autres patients.

Référence :	Type de milieu :	Emballage :
201408	Boîte de gélose précoulée prête à l'emploi	2 x 10 pcs (90 mm)

2. Principe de la procédure

La Peptone et l'extrait de levure fournissent une source d'azote et de vitamines dans le milieu CHROMagar *C. difficile*. Le mélange de suppléments inhibe la croissance de la plupart des micro-organismes présents dans les échantillons autres que *Clostridioides difficile*. Les facteurs de croissance stimulent la croissance de *Clostridioides difficile*. Le mélange chromogène permet de détecter *Clostridioides difficile*, qui forme des colonies incolores. En outre, les colonies de *C. difficile* sont fluorescentes sous la lumière UV d'une longueur d'onde de 365 nm.

3. Composition du milieu

En g/l d'eau distillée :	Suppléments/litre de milieu
Peptones et extrait de levure	25,0 g
Sels	9,0 g
Mélange chromogène	1,7 g
Facteurs de croissance	4,0 g
Agar	15,0 g
	Mélange sélectif
	0,325 g

pH 7,8± 0,2 à 25° C.

Aspect du milieu - clair, paille.

4. Préparation du milieu

Le milieu est prêt à l'emploi. Amener le milieu à température ambiante immédiatement avant de l'utiliser.

5. Matériel nécessaire, non fourni

Matériel de laboratoire standard nécessaire aux tests, y compris un incubateur ou une étuve à atmosphère contrôlée.

6. Précautions

- Le produit est destiné à un usage professionnel uniquement.
- Produit non automatisé.

- Le milieu contient des composants d'origine animale qui peuvent être associés à la présence d'agents biologiques pathogènes. Il doit donc être manipulé conformément aux principes de manipulation du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Ne pas utiliser les boîtes si le support présente des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou d'autres signes de détérioration.
- Ne pas utiliser de boîtes endommagées.
- Ne pas utiliser de boîtes après la date de péremption.
- La réincubation de boîtes déjàensemencées n'est pas autorisée.
- Pour garantir des résultats de test corrects, suivez ces instructions.
- Si la manipulation du milieu diffère de celle décrite dans ce manuel, le laboratoire est tenu de valider la procédure adoptée.

7. Stockage

Conserver les boîtes à une température comprise entre 2 et 12 °C jusqu'à la date de péremption. Conserver les boîtes dans leur emballage d'origine, en position inversée (côté gélose vers le haut), à l'abri des sources de lumière directe. Pour éviter la congélation de la gélose, ne pas conserver les boîtes près des parois du réfrigérateur. Pour éviter l'apparition de condensation d'eau sur le couvercle de la boîte, ne pas ouvrir le réfrigérateur plus souvent que nécessaire et ne pas stocker les boîtes dans un réfrigérateur trop rempli.

8. Péremption

Le milieu conservé à une température comprise entre 2-12°C conserve ses propriétés jusqu'à 3 mois à partir de la date de fabrication

9. Type d'échantillon

Échantillons de selles humaines fraîches contenant du sang, écouvillons rectaux, ainsi que d'autres échantillons clinique. Placer l'échantillon dans un récipient stérile et hermétique muni d'un bouchon à vis. Ne pas laisser les selles se dessécher. Si le patient n'est pas en mesure d'évacuer ses selles, prélever un échantillon par écouvillonnage rectal.

Livrer les échantillons à tester au laboratoire dans les deux heures suivant le prélèvement. S'il n'est pas possible de livrer les échantillons au laboratoire dans ce délai, ils doivent être placés dans un milieu de transport Cary-Blair ou Amies et réfrigérés. À température du réfrigérateur, les échantillons dans le milieu de transport sont stables jusqu'à 2 jours.

10. Procédure du test

1. Laisser le milieu revenir à température ambiante avant l'inoculation.
2. Inoculer l'échantillon en l'étalant directement sur la surface de la gélose.
3. Si l'échantillon est prélevé sur un écouvillon, faire tourner doucement l'extrémité de l'écouvillon sur une petite surface de gélose juste autour des bords de la boîte, puis inoculer l'échantillon à l'aide d'une anse stérile en utilisant la méthode des stries .
4. Incuber la boîte inoculée à 35±2°C.
5. Vérifier la croissance après 24 heures d'incubation.

11. Lecture et interprétation

Après incubation, observer :

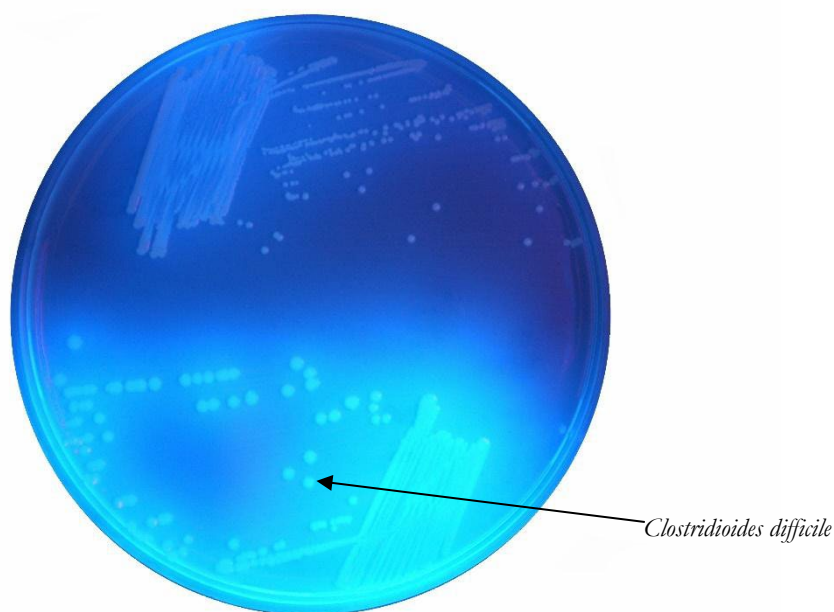
- Présence de croissance,
- La morphologie des colonies,
- La fluorescence des colonies sous une lumière UV d'une longueur d'onde de 365 nm.

Morphologie typique des colonies sur le milieu CHROMagar C.difficile :

Micro-organisme	Morphologie typique d'une colonie
<i>C. difficile</i>	Colonies incolores, fluorescentes sous lumière UV
La plupart des autres bactéries	Pas de croissance
Bactéries Gram-positives	Pas de croissance

L'évaluation de la fluorescence des colonies sous lumière UV (longueur d'onde de 365 nm) augmente la sensibilité de la procédure, car les bactéries *Clostridioides difficile* ont la capacité d'être fluorescentes.

Pour l'identification définitive des micro-organismes en culture, des tests supplémentaires et/ou des tests d'identification doivent être effectués à l'aide d'autres méthodes utilisées en laboratoire.



Morphologie des colonies et schéma de croissance de *Clostridioides difficile* à l'aide d'une lampe UV sur la gélose CHROMagar *C.difficile*

12. Contrôle qualité

Les propriétés nutritionnelles et la sélectivité du milieu doivent être vérifiées à l'aide de souches de référence donnant les réactions positives et négatives attendues. Le test doit être effectué à l'aide de cultures pures de 18 à 24 heures de souches de référence donnant les réactions souhaitées. Utiliser les souches de référence suivantes pour effectuer le contrôle qualité du milieu :

Souche de référence :	Intensité de la croissance :	Morphologie des colonies :
<i>Clostridium difficile</i> ATCC 9689	Bonne croissance	Incolore, fluorescent sous lumière UV
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Pas de croissance	-
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Pas de croissance	-
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Pas de croissance	-

D'autres souches de référence peuvent être utilisées conformément aux procédures et instructions du laboratoire. Les procédures de contrôle qualité doivent répondre aux exigences des réglementations et lignes directrices/recommandations applicables.

13. Limites de la méthode

- En raison de la variabilité des besoins nutritionnels, certaines souches de *Clostridioides difficile* peuvent se développer faiblement ou pas du tout sur le milieu CHROMagar *C.difficile*.

14. Caractéristiques de la méthode

La PCR est devenue la principale technique de détection de *C. difficile*. Néanmoins, la culture est essentielle pour le typage des souches bactériennes et la détermination de leur sensibilité aux antibiotiques. Le milieu CHROMagar *C. difficile* a été conçu pour simplifier et accélérer la culture de ces micro-organismes, ainsi que pour présenter leurs propriétés fluorescentes grâce à sa composition. Il s'agit d'un milieu extrêmement sensible et de haute spécificité.

Les résultats des études comparatives indiquent une sensibilité et une spécificité élevées du milieu CHROMagar *C. difficile***, 2044 échantillons de selles ont été testés, l'incubation a été réalisée pendant 24 heures à 35°C dans un environnement anaérobie.

	CHROMagar <i>C.difficile</i>	Méthode de référence (milieu Taurocholate-CCFA)*.
Sensibilité	95,4% **	70%
Spécificité	88,8% **	97%

* - milieu Taurocholate-CCFA (Cyclosérine-Cefoxitine-Fructose-Jaune d'œuf).

** - données obtenues à partir de l'étude "Comparison of CHROMagar™ C.difficile and taurocholate-CCFA media for isolation of toxigenic Clostridium difficile from stools", Gaillot O. et al. ASM 2014

15. Élimination des milieux usagés

Les milieux usagés et non utilisés doivent être éliminés conformément à la réglementation en vigueur sur les déchets médicaux et aux procédures de laboratoire pour l'élimination des matières infectieuses et potentiellement infectieuses.

16. Déclaration des événements indésirables

Conformément à la réglementation en vigueur, les événements et incidents indésirables qui peuvent être directement liés au milieu décrit doivent être notifiés au fabricant et aux autorités compétentes.

17. Références







1. Implication de Clostridium difficile dans les infections digestives nosocomiales. S. REZGUI et al. - Service de Biologie Clinique - EHS Dr. Maouche Mohand Amokrane, Alger.
2. H. Roux, R. Le Guern, R. J. Courcol, O. Gaillot; Inst. de Microbiologie, Lille Univ. Hosp., Lille, France. 2014, Comparison of CHROMagar C. difficile and Taurocholate-CCFA Media for Isolation of Toxigenic Clostridium difficile from Stools.
3. Van Broeck Johan, Ngyuvula Mantu Eléonore, Soumillion Kate and Delmée Michel National Reference Centre Clostridium difficile, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium. 2014, Evaluation of a new 24 h culture medium for the isolation of Clostridium difficile from stool samples.
4. J. Van Broeck, C. Adams and M. Delmée - Microbiology Unit, Université Catholique de Louvain, Brussels, Belgium, 2015 A Toxigenic Culture in 24 Hours for the Diagnosis of Clostridium difficile Infection
5. Berger MA., Faggionato D., Martinez A., Domecq P., Fernández Canigia L. Laboratorio Domecq & Lafage, Hospital Alemán Buenos Aires, Argentina 2016, Evaluación del CHROMagar C.difficile para el aislamiento de Clostridium difficile en muestras de materia fecal
6. S. REZGUI et al. - Service de Biologie Clinique - EHS Dr. Maouche Mohand Amokrane, Alger, 2017. implication de Clostridium difficile dans les infections digestives nosocomiales









Historique des modifications apportées au document

Date du changement	Section	Description du changement
14/04/2023	Document complet	Adaptation aux exigences du règlement (UE) 2017/746

NOTE

L'historique des révisions du document n'inclut pas les changements éditoriaux.

SYMBOLE	NOM DU SYMBOLE	DESCRIPTION	REF.
	Fabricant	Indique le fabricant du dispositif médical.	5.1.1
	Date de fabrication	Indique la date à laquelle le dispositif médical a été fabriqué..	5.1.3
	Numéro de catalogue	Indique le numéro de catalogue du fabricant afin que le dispositif médical puisse être utilisé.	5.1.6
	Lot	Indique le code de lot du fabricant afin de permettre l'identification du lot.	5.1.5
	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Indique un dispositif médical destiné à être utilisé comme dispositif médical de diagnostic in vitro.	5.5.1
	Ne pas réutiliser	Indique un dispositif médical destiné à un usage unique.	5.4.2

	Suffisantes pour <n> tests	Indique le nombre total de tests qui peuvent être effectués avec le dispositif médical.	5.5.5
	Date limite d'utilisation	Indique la date après laquelle le dispositif médical ne doit pas être utilisé	5.1.4
	Limite de température	Les limites de température doivent être indiquées à côté des lignes horizontales supérieure et inférieure.	5.3.7
	Symbole de sécurité (Conformité avec les exigences de l'UE)	Le marquage CE apposé sur un produit est une déclaration du fabricant selon laquelle le produit est conforme aux exigences essentielles de la réglementation de l'Union européenne en matière de santé, de sécurité et d'environnement.	nd.
	Consultez la notice d'utilisation	Indique la nécessité pour l'utilisateur de consulter la notice d'utilisation	5.4.3
	Stérilisé à l'aide de techniques de traitement aseptiques	Indique un dispositif médical qui a été fabriqué en utilisant des techniques aseptiques reconnues.	5.2.2
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation	Indique qu'un dispositif médical ne doit pas être utilisé si l'emballage a été endommagé ou ouvert et que l'utilisateur doit consulter la notice d'utilisation pour obtenir des informations sur la dépendance.	5.2.8
	Contient du matériel biologique d'origine animale	Indique un dispositif médical contenant des tissus biologiques, des cellules ou leurs dérivés d'origine animale.	5.4.8




Graso Zenon Sobiecki
Krag 4A ; 83200 Starogard Gdański
www.grasobiotek.pl

Département de la production
Leśna 1, Owidz
83-211 Jabłowo