

Gélose chromID™ C. difficile (CDIF)



Milieu chromogène pour la recherche et l'identification de *Clostridium difficile*.

INTRODUCTION ET OBJET DU TEST

La gélose chromID C. difficile est un milieu chromogène sélectif destiné à la recherche et à l'identification de *Clostridium difficile* à partir de prélèvements d'origine humaine (selles de patients symptomatiques) (1, 2).

Le milieu contribue au diagnostic et au suivi de l'épidémiologie des infections à *Clostridium difficile* (3).

Clostridium difficile est un agent pathogène responsable de colites pseudo-membraneuses ou plus généralement de diarrhées nosocomiales ou survenant après un traitement antibiotique (4, 5, 6, 7, 8).

PRINCIPE

La gélose chromID C. difficile est constituée d'une base nutritive riche associant différentes peptones et du taurocholate favorisant la germination des spores (9).

Elle contient un substrat chromogène (10) (brevet déposé) et un mélange d'antibiotiques permettant :

- La recherche et l'identification des souches de *Clostridium difficile* productrices de β -glucosidase par la coloration caractéristique grise à noire des colonies.
- L'inhibition de la plupart des bactéries Gram (+), bactéries Gram (-), levures et moisissures.

PRÉSENTATION

	Milieu prêt à l'emploi
REF 43 871	Coffret de 2 x10 boîtes (90 mm) CDIF *

* imprimé sur chaque boîte

COMPOSITION

Formule théorique

Ce milieu peut être ajusté et/ou complété en fonction des critères de performances imposés :

Peptone de viande (porcin).....	8,0 g
Taurocholate (bovin).....	1g
Extrait de levure.....	3,5 g
Chlorure de sodium.....	6,0 g
Mélange sélectif.....	0,27 g
Mélange chromogène.....	0,3 g
Agar.....	13,0 g
Eau purifiée.....	1 l

pH 7,3

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Etuve bactériologique.
 - GENbox anaer (Réf. 96124) avec jarre.
 - GENbag anaer (Réf. 45534).
- ou
- Enceintes thermo régulées à atmosphère contrôlée.

PRECAUTIONS D'UTILISATION

- **Pour diagnostic *in vitro* uniquement.**
- **Pour usage professionnel uniquement.**
- Ce coffret contient des composants d'origine animale. La maîtrise de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne pouvant garantir de façon absolue que ces produits ne contiennent aucun agent pathogène transmissible, il est recommandé de les manipuler avec les précautions d'usage relatives aux produits potentiellement infectieux (ne pas ingérer ; ne pas inhaler).
- Les prélèvements, cultures bactériennes et produits ensemencés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et doivent être manipulés de façon appropriée. Les techniques aseptiques et les précautions usuelles de manipulation pour le groupe bactérien étudié doivent être respectées tout au long de la manipulation; se référer à "CLSI® M29-A, *Protection of Laboratory Workers From occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* – Révision en vigueur". Pour informations complémentaires sur les précautions de manipulation, se référer à "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, CDC/NIH - Dernière édition", ou à la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation.
- Les milieux de culture ne doivent pas être utilisés comme matériau ou composant de fabrication.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les réactifs dont l'emballage est détérioré.
- L'utilisation du milieu peut être délicate pour des personnes ayant des difficultés d'appréciation des couleurs.
- Ne pas utiliser les boîtes contaminées ou exsudées.
- La gélose peut présenter quelques précipités et ou quelques halos d'éclaircissement qui n'altèrent pas les performances du milieu.
- La lecture et l'interprétation du milieu sont effectuées sur des colonies isolées.
- L'interprétation des résultats du test doit être faite en tenant compte du contexte clinique, des aspects macro et microscopiques et éventuellement des résultats d'autres tests.
- Les performances présentées ont été obtenues avec la méthodologie indiquée dans cette notice. Toute déviation de méthodologie peut modifier les résultats.

CONDITIONS DE STOCKAGE

- **Les boîtes se conservent entre 2°C et 8°C dans leur coffret jusqu'à la date de péremption.**
- La durée de conservation des boîtes hors du coffret, en sachet cellophane, est de 2 semaines à 2-8°C à l'abri de la lumière.

ECHANTILLONS

Le milieu est ensemencé directement à partir de selles liquides diarrhéiques ou molles. Le prélèvement peut être traité ou non avec de l'éthanol (11).

Il convient de respecter les bonnes pratiques en terme de prélèvements et de transport des bactéries anaérobies.

MODE OPERATOIRE

1. Laisser les boîtes revenir à température ambiante.
2. Ensemencer le prélèvement dès son arrivée au laboratoire.
3. Placer la boîte en atmosphère appropriée (anaérobie) en utilisant éventuellement des générateurs d'atmosphère contrôlée.
4. Incuber à l'étuve, couvercle en bas, à 37°C.
Les cultures sont examinées après 24 heures d'incubation.

LECTURE ET INTERPRETATION

- Après incubation, observer la croissance bactérienne et la présence de colonies caractéristiques : les colonies de *Clostridium difficile* sont grises à noires à bord irrégulier ou lisse.
- Des tests appropriés sur le prélèvement doivent être également réalisés pour confirmer l'infection à *Clostridium difficile*. (8)
- Des tests complémentaires biochimiques ou moléculaires peuvent être réalisés pour confirmer l'identification si le prélèvement n'est pas traité à l'éthanol.

CONTROLE DE QUALITE

Protocole :

Le milieu peut être testé à l'aide de la souche suivante :

- *Clostridium difficile* ATCC® BAA2155 (souche équivalente à la souche CCUG 60276)

Résultats attendus :

Souche	Résultats à 37°C
<i>Clostridium difficile</i> ATCC BAA2155 incubation sous atmosphère anaérobie	Croissance et coloration grise à noire après 24 heures

Remarque :

Il est de la responsabilité de l'utilisateur de prendre en compte la nature de l'application et la législation locale en vigueur pour la mise en oeuvre du contrôle de qualité (fréquence, nombre de souches, température d'incubation...).

LIMITES DU TEST

- Certains micro-organismes autres que *C. difficile* peuvent se développer faiblement sur le milieu et présenter une coloration caractéristique : *C. tertium*, *C. clostridioforme*, *Bacteroides*, *Lactobacillus*.
- Les colonies issues de la gélose chromID™ C difficile ne doivent pas être utilisées avec la carte d'identification VITEK®2 ANC et avec les galeries antibiogramme ATB™ destinées aux anaérobies (tendance à une surestimation globale de la résistance). Une subculture sur milieu non sélectif est recommandée.
- Le développement est fonction des exigences propres à chaque micro-organisme. Il est donc possible que certaines souches de *C. difficile* ayant des exigences spécifiques ne se développent pas.

PERFORMANCES

Une étude sur prélèvements cliniques a été réalisée sur 2 sites (Espagne et Allemagne).

737 prélèvements (selles liquides, diarrhéiques ou molles) ont été ensemencés sur la gélose chromID C. difficile et sur un milieu conventionnel dont la lecture est recommandée en 48h.

Les échantillons fécaux ont été ensemencés soit directement (n=474), soit après un traitement à l'éthanol (n=263).

Prélèvements ensemencés directement (sans traitement à l'éthanol) :

Sur les 474 prélèvements testés, 78 ont été confirmés positifs à *C. difficile* par PCR.

	% de récupération (*)	Sensibilité (%)
chromID C. difficile 24h	99 (72/73*)	92 (72/78)
Autre milieu de culture 48h	55 (40/73*)	51 (40/78)

* Nombre de prélèvements retrouvés positifs / Nombre de prélèvements retrouvés positifs à 24 heures sur chromID C. difficile et/ou à 48 heures sur l'autre milieu.

Les spécificités obtenues pour la gélose chromID C. difficile (24h) et l'autre milieu (48h) sont respectivement de 88 % et de 90 %.

Prélèvements ensemencés après traitement à l'éthanol :

Sur les 263 prélèvements testés, 41 échantillons ont été confirmés positifs à *C. difficile* par PCR.

	% de récupération (*)	Sensibilité (%)
chromID™ C. difficile 24h	89 (33/37*)	80 (33/41)
Autre milieu de culture 48h	81 (30/37*)	73 (30/41)

* Nombre de prélèvements retrouvés positifs / Nombre de prélèvements retrouvés positifs à 24 heures sur chromID C. difficile et/ou à 48 heures sur l'autre milieu.

Les spécificités obtenues pour la gélose chromID C. difficile (24h) et l'autre milieu (48h) sont respectivement de 98 % et de 93 %.

ELIMINATION DES DECHETS

Les réactifs non utilisés peuvent être éliminés comme déchets non dangereux.










Éliminer les réactifs utilisés ainsi que les matériels à usage unique contaminés en suivant les procédures relatives aux produits infectieux ou potentiellement infectieux.

Il incombe à chaque laboratoire de gérer les déchets et les effluents qu'il produit selon leur nature et leur dangerosité, et d'en assurer (ou faire assurer) le traitement et l'élimination selon les réglementations applicables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. CROBACH MJT. 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 of Health care Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). - *Infect Control Hosp Epidemiol* - 2010, vol. 31, p. 431-455.
4. BARTLETT JG., 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. and 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. 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.
10. 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.
11. 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.

TABLE DES SYMBOLES

Symbole	Signification
	Référence du catalogue
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Fabricant
	Limites de température
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour "n" tests
	Conserver à l'abri de la lumière

BIOMERIEUX, le logo bleu, chromID, VITEK et ATB sont des marques utilisées, déposées et/ou enregistrées appartenant à bioMérieux SA ou à l'une de ses filiales.

ATCC est une marque appartenant à American Type Culture Collection.

CLSI est une marque appartenant à Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Les autres marques et noms de produits mentionnés dans ce document sont des marques commerciales de leurs détenteurs respectifs.