

ISTRUZIONI PER L'USO

COLOREX™ C. DIFFICILE

Piastre pronte all'uso

1 - DESTINAZIONE D'USO

Dispositivo diagnostico *in vitro*. Terreno cromogeno per l'isolamento e la determinazione di *Clostridium difficile*, in campioni clinici.

2 - COMPOSIZIONE - FORMULA TIPICA *

Peptoni ed estratto di lievito	25.0 g/L
Sali	9.0 g/L
Fattori di crescita	4.0 g/L
Composti cromogeni	1.7 g/L
Composti selettivi	0.325 g/L
Agar	15.0 g/L
Acqua purificata	1000 mL

* Il terreno può essere compensato e/o corretto per adeguare le sue prestazioni alle specifiche.

3 - DESCRIZIONE E PRINCIPIO DEL METODO

Clostridium difficile è la principale causa di infezioni nosocomiali ed è generalmente associato a casi di colite pseudomembranosa e diarrea. Queste infezioni si verificano principalmente in pazienti ricoverati sotto terapia antibiotica e sono più frequenti e più difficili da trattare negli ultimi anni a causa dell'emergere di ceppi di *C. difficile* altamente tossigenici.

Sebbene la PCR sia diventata la principale tecnica di rilevamento di *C. difficile*, la coltura è essenziale per la tipizzazione dei ceppi e per i test di sensibilità agli antibiotici. Colorex™ C.difficile è un terreno di coltura fluorogeno, estremamente sensibile e selettivo, appositamente progettato per semplificare e velocizzare (24 h) l'isolamento in coltura di *C. difficile*.

4 - CARATTERISTICHE DEL TERRENO

Aspetto del terreno in piastra giallino, limpido
 pH finale a 25 °C 7,8 ± 0,2

5 - MATERIALE FORNITO - CONFEZIONE

Prodotto	Tipo	REF	Confezione
Colorex™ C.difficile CND: W0104010402; EDMA: 14.01.04.02; RDM: 2134670	Piastre pronte all'uso	54CD12	2 x 10 piastre ø 90 mm confezionamento primario: 2 sacchetti di cellophane confezionamento secondario: scatola di cartone

6 - MATERIALI NECESSARI E NON FORNITI

Anse e tamponi sterili da microbiologia, termostato e strumentazione di laboratorio, terreni di coltura ausiliari e reagenti per la completa identificazione delle colonie.

7 - CAMPIONI

Colorex™ C.difficile può essere utilizzato per la semina dei campioni fecali. Applicare le norme di buona prassi di laboratorio per la raccolta, il trasporto e la conservazione dei campioni.

8 - PROCEDURA DELL'ANALISI

Portare le piastre a temperatura ambiente e lasciare asciugare la superficie del terreno.

Inoculare strisciando il campione con un'ansa sui quattro quadranti della piastra per ottenere colonie ben isolate, assicurandosi che le sezioni 1 e 4 non si sovrappongano. In alternativa, se il materiale viene seminato direttamente da un tampone, ruotare il tampone su una piccola area della superficie vicino al bordo; quindi strisciare su tutta la piastra da questa zona inoculata.

Incubare in anaerobiosi, a 35-37°C per 24 ore.

9 - LETTURA ED INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Dopo l'incubazione, osservare la crescita batterica sotto una lampada di Wood a 365 nm.

Le colonie di *C. difficile* appariranno incolore e fluorescenti.

La maggior parte degli altri batteri saranno inibiti o non mostreranno alcuna fluorescenza



Tipico aspetto delle colonie di *C. difficile*

10 - CONTROLLO QUALITÀ

Ciascun lotto del prodotto qui descritto è rilasciato alla vendita dopo l'esecuzione del controllo qualità che ne verifica la conformità alle specifiche. È comunque responsabilità dell'utilizzatore eseguire un proprio controllo di qualità con modalità in accordo alle normative vigenti in materia, alle regole dell'accreditamento ed in funzione della propria esperienza di Laboratorio. Qui di seguito sono riportati alcuni ceppi utili per il controllo di qualità.





CEPPI DI CONTROLLO	INCUBAZIONE (T°/ t / ATM)	RISULTATI ATTESI
<i>C. difficile</i> ATCC 43255	35-37°C/18-24 H /AN	incolore e fluorescente
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124	35-37°C/18-24 H/AN	inibito
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	35-37°C/18-24 H/AN	inibito
<i>E. coli</i> ATCC 25922	35-37°C/18-24 H/AN	inibito

AN: incubazione in anaerobiosi; ATCC è un marchio registrato di American Type Culture Collection;

11 - CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

Le caratteristiche delle prestazioni del terreno CHROMagar™ sono state valutate su 2044 campioni di feci con incubazione per 24 ore a 35°C, in atmosfera anaerobica. I valori di sensibilità e specificità riportati sono rispettivamente del 95,4% e 88,8%.¹

Prima del rilascio alla vendita, un campione rappresentativo di tutti i lotti di piastre pronte di Colorex™ C.difficile é testato per la produttività, la specificità e la selettività.

Produttività e specificità sono valutate mediante tecnica ecometrica semiquantitativa con il ceppo target *C. difficile* ATCC 43255. Dopo incubazione a 35-37°C per 18 -24 ore in anaerobiosi, si registra l'entità della crescita e lo sviluppo di fluorescenza delle colonie, che risultano in accordo alle specifiche. La selettività viene valutata con metodo Miles-Misra modificato inoculando le piastre con opportune diluizioni decimali in soluzione salina di una sospensione McFarland 0,5 dei ceppi non-target *C. perfringens* ATCC 13124, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. coli* ATCC 25922. I ceppi non target risultano totalmente inibiti.

12 - LIMITI DEL METODO

- Le colonie microbiche presenti sulla piastra, anche se differenziate sulla base delle loro caratteristiche cromatiche e morfologiche, devono essere sottoposte, previa loro purificazione, ad una completa identificazione con tecniche biochimiche, immunologiche, molecolari o di spettrometria di massa e, se pertinente, sottoposte al test di sensibilità agli antibiotici.
- La ricerca delle tossine A e/o B può essere eseguita direttamente per mezzo di un classico test immunocromatografico.
- Il terreno di coltura qui descritto è da intendersi come un ausilio alla diagnosi delle infezioni microbiche. L'interpretazione dei risultati deve essere fatta considerando la storia clinica del paziente, l'origine del campione ed i risultati di altri test diagnostici.

13 - PRECAUZIONI ED AVVERTENZE

- Il terreno in piastra qui descritto è un diagnostico *in vitro* di tipo qualitativo, per uso professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.
- Il prodotto qui descritto non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione europea vigente.
- Il terreno di coltura qui descritto contiene materie prime di origine animale. I controlli *ante* e *post mortem* degli animali e quelli durante il ciclo di produzione e distribuzione dei materiali non possono garantire in maniera assoluta che questo prodotto non contenga nessun agente patogeno trasmissibile; per queste ragioni si consiglia di manipolare il prodotto con le precauzioni d'uso specifiche per i materiali potenzialmente infettivi (non ingerire, non inalare, evitare il contatto con la pelle, gli occhi, le mucose). Scaricare dal sito web www.biolifeitaliana.it il documento TSE Statement, con le misure messe in atto da Biolife Italiana S.r.l. per il contenimento del rischio legato alle patologie animali trasmissibili.
- Trattare tutti i campioni come potenzialmente infettivi.
- L'ambiente di laboratorio deve essere controllato in modo da evitare contaminazioni con il terreno e con gli agenti microbici.
- La singola piastra del prodotto qui descritto è monouso.
- Le piastre pronte all'uso non sono da considerare un "prodotto sterile" non essendo soggette a sterilizzazione terminale, ma un prodotto a biocontaminazione controllata, nei limiti di specifiche definite ed indicate sul documento di Controllo Qualità del prodotto.
- Sterilizzare tutti i rifiuti a rischio biologico prima della loro eliminazione. Smaltire le piastre non utilizzate e le piastre seminate con i campioni o con i ceppi di controllo e sterilizzate, in accordo alla legislazione vigente in materia.
- I Certificati d'Analisi e la Scheda di Sicurezza del prodotto sono disponibili sul sito www.biolifeitaliana.it.
- Le informazioni contenute in questo documento sono state definite al meglio delle nostre conoscenze e capacità e rappresentano una linea guida al corretto impiego del prodotto, ma senza impegno o responsabilità. L'utilizzatore finale deve in ogni caso, rispettare le leggi, i regolamenti e le procedure standard locali per l'esame dei campioni raccolti dai diversi distretti organici umani ed animali, dei campioni ambientali e dei prodotti destinati al consumo umano o animale. Le nostre informazioni non esonerano l'utilizzatore finale dalla sua responsabilità di controllare l'idoneità dei nostri prodotti allo scopo previsto.

14 - CONSERVAZIONE E VALIDITÀ

Dopo il ricevimento, conservare nella confezione originale a 2-8°C al riparo dalla luce diretta. In queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Dopo l'apertura del sacchetto di plastica, le piastre possono essere usate entro 7 giorni, se conservate in ambiente pulito a 2-8°C. Non utilizzare le piastre se il sacchetto di plastica è danneggiato, non utilizzare le piastre rotte. Non utilizzare le piastre oltre la data di scadenza. Non utilizzare le piastre se vi sono segni evidenti di deterioramento (es.: contaminazione, eccessiva umidità, eccessiva disidratazione, rotture dell'agar, colore alterato).

15 - BIBLIOGRAFIA

1. Gaillot O. et al. Comparison of CHROMagar™ C.difficile and taurocholate-CCFA media for isolation of toxigenic Clostridium difficile from stools. ASM 2014.

TABELLA DEI SIMBOLI APPLICABILI

REF Numero di catalogo	o REF	LOT Numero di lotto	IVD Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i>	Fabbricante	Utilizzare entro
Limiti di temperatura	Contenuto sufficiente per <n> saggi	Consultare le Istruzioni per l'Uso	Non riutilizzare	Fragile maneggiare con cura	

CRONOLOGIA DELLE REVISIONI

Versione	Descrizione delle modifiche	Data
Istruzioni per l'Uso (IFU)-Revisione 0	Prima emissione	06/2021

Nota: lievi modifiche tipografiche, grammaticali e di formattazione non sono incluse nella cronologia delle revisioni.

COLOREX e CHROMagar sono marchi registrati dal Dr RAMBACH. Le piastre COLOREX™ C.difficile sono preparate con materiali forniti da CHROMagar.

