

**ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ**

Το Brazier's CCYE Agar είναι η φόρμουλα που χρησιμοποιείται τώρα από το "Anaerobe Reference Unit" για την απομόνωση του *C. difficile* σαν αποτέλεσμα της εργασίας που ξεκίνησε ο Ken Phillips, με τον Paul Levett και ολοκλήρωσε ο Jon Brazier.

**ΕΙΣΑΓΩΓΗ**

Το *Clostridium difficile* είναι η κύρια αιτία νοσοκομειακής μολυσματικής διάρροιας σε ενήλικες.

Αυτές οι λοιμώξεις εμφανίζονται κυρίως σε ασθενείς που έχουν τόσο ιατρική φροντίδα όσο και θεραπεία με αντιβιοτικά.

Τα συμπτώματα της μόλυνσης από *C. difficile* είναι ο πυρετός, οι κοιλιακές κράμπες και η σοβαρή διάρροια που οδηγεί σε θάνατο. Στις Ηνωμένες Πολιτείες, σχεδόν 250.000 άνθρωποι προσβάλλονται από *C. difficile* με τουλάχιστον 14.000 θανάτους (εκτίμηση CDC, 2013).

Λόγω της εμφάνισης του εξαιρετικά τοξικογόνου στελέχους *C. difficile*, αυτές οι μολύνσεις έχουν γίνει πιο συχνές και πιο δύσκολες στη θεραπεία τους τα τελευταία χρόνια.

Αν και η PCR έχει καταστεί η κορυφαία τεχνική ανίχνευσης *C. difficile*, η καλλιέργεια είναι απαραίτητη για την τυποποίηση των στελεχών και για τη δοκιμή ευαισθησίας κατά της μικροβιακής αντοχής.

**ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ**

Βασισμένο πάνω στο αναερόβιο υλικό που ηγείται στην αγορά "Fastidious Anaerobe Agar", ενσωματώνει επιπλέον συστατικά έτσι ώστε να βελτιώσει την απομόνωση και διαφοροποίηση του *C. difficile* από κλινικά δείγματα.

Χολικά οξέα είναι παρόντα για να προωθήσουν την εκβλάστηση των σπόρων ακολουθώντας την μέθοδο του "σοκ της αλκοόλης" και επίσης *p*-υδροξυφαινυλακετικό οξύ για να εντείνει την παραγωγή του *p*-cresol, ένα διακριτικό προϊόν μεταβολισμού του *C. difficile*.

Η εκλεκτικότητα επιτυγχάνεται με την προσθήκη του εμπλουτιστικού Cefoxitin – Cycloserine (αναστέλλονται *Staphylococci*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus faecalis*, *gram(-)* αναερόβιοι θάκιλοι και *Clostridium sp*).

Το γαλάκτωμα κρόκου αυγού προστίθεται για να βοηθήσει στη διαφοροποίηση του *C. difficile* από τα Λεκιθινάση θετικά Κλωστηρίδια.

Τέλος η προσθήκη των αιμολυμένων ερυθρών αλόγου αποτελεί ένα σημαντικό θρεπτικό συμπλήρωμα και επιπλέον βοηθάει την διάκριση των αποικιών στην υπεριώδη ακτινοβολία (UV λάμπα).

ΣΥΝΘΕΣΗ	g/litre
Peptone Mix	23.0
Sodium chloride	5.0
Soluble Starch	1.0
Agar	12.0
Sodium bicarbonate	0.4
Glucose	1.0
Sodium pyruvate	1.0
Cysteine HCl	0.5
Haemin	0.01
Vitamin K	0.001
L-arginine	1.0
Soluble pyrophosphate	0.25
Sodium succinate	0.5
Cholic acid	1.0
<i>p</i> -Hydroxyphenylacetic acid	1.0
Egg yolk Emulsion	40ml
Lysed Horse Blood	10ml
D-Cycloserine	250 mg
Cefoxitin	8 mg

Εμφάνιση: Πορτοκαλή ανοιχτό μη διαυγές

Τελικό pH 7.0 ± 0.2 στους 25 °C.

**ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ**

Το CLOSTRIDIUM DIFFICILE AGAR είναι in vitro εργαστηριακό διαγνωστικό υλικό και πρέπει να χειρίζεται μόνο από εξειδικευμένα άτομα του εργαστηρίου.

Το υλικό αυτό περιέχει πεπτόνες και εκχυλίσματα ζωικής προέλευσης. Τα πιστοποιητικά για την προέλευση και την υγειονομική κατάσταση των ζώων δεν εγγυόνται πλήρως την απουσία μεταδιδόμενων παθογόνων παραγόντων. Γι' αυτό συνιστάται αυτά τα υλικά να αντιμετωπίζονται ως δυνητικώς μολυσματικά και με τήρηση των συνήθων μέτρων ασφαλείας (να μη λαμβάνονται από την πεπτική ή την αναπνευστική οδό).

Ο χειρισμός των τρυβλίων να γίνεται πάντα με γάντια και μέσα σε Laminar flow Class II, για να αποφεύγονται επιμολύνσεις κυρίως από σαπροφυτικούς μύκητες.

Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια εάν παρουσιάζουν ενδείξεις μικροβιακής μόλυνσης.

Μετά την ημερομηνία λήξεως το υλικό είναι ακατάλληλο για χρήση.

Σε περίπτωση επαφής με το δέρμα πλύνουμε αμέσως με άφθονο νερό και σαπούνι.

Τα θετικά δείγματα πρέπει να καταστρέφονται σύμφωνα με τους κανόνες υγιεινής που προβλέπονται για τη διαχείριση μολυσματικών δειγμάτων.

### ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΟΡΑΣ

Τα τρυβλία πρέπει να φυλάσσονται στους 6 – 12 °C μέσα στη συσκευασία τους μέχρι τη στιγμή της χρήσης τους.

Η κατάψυξη ακόμα και στιγμιαία, καταστρέφει το υλικό. Επίσης να αποφεύγεται την υπερβολική θέρμανση.

Τα τρυβλία είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν μέχρι την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα.

Εάν ανοίξετε την αεροστεγή συσκευασία του τρυβλίου κατά λάθος, μπορείτε να το φυλάξετε στο ψυγείο για 5 – 7 μέρες αφού το σφραγίσετε με παραφίλμ η με σακουλάκι.

Για την μεταφορά οι μελέτες σταθερότητας μας έδειξαν ότι τα σωληνάκια μπορούν να παραμείνουν στους 6 - 25 °C για 3 ημέρες ή στους 25 - 40 °C για 24 ώρες, χωρίς να επηρεαστεί η απόδοση του προϊόντος.

### ΤΡΟΠΟΣ ΧΡΗΣΗΣ

Ενοφθαλμίστε, απλώνοντας το δείγμα πάνω στην επιφάνεια του υλικού με διαδοχικές αραιώσεις. Επώαστε για 24 - 48 ώρες στους 35 - 37 °C σε αναερόβιες συνθήκες. Παρατηρήστε τις αποικίες και συμβουλευτείτε τον πίνακα.

### ΑΝΑΓΝΩΣΗ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ

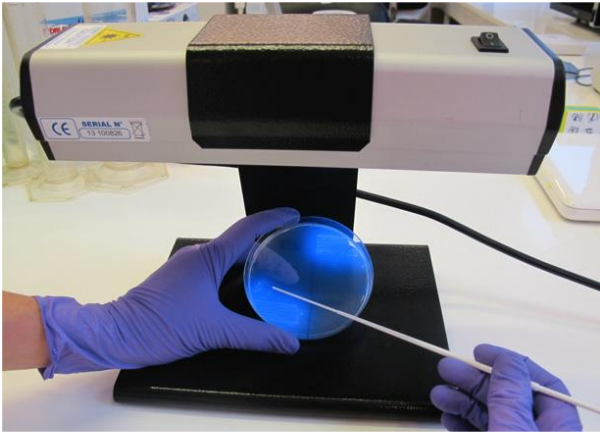
Οι αποικίες του *C. difficile* είναι γκρι, αδιαφανείς, διαμέτρου 2-3 mm συνήθως κυκλικές με τάση να επιμηκύνονται έως να εξαπλώνονται, με εμφάνιση γυαλιού με άκρες σαν κρόσια.

Είναι λεκιθινάση αρνητικές κι έχουν μυρωδιά φαινόλης η οποία οφείλεται στην παραγωγή p-cresol.

Επώαση περισσότερο από 48 ώρες μπορεί να οδηγήσει σε αποικίες πιο ανοιχτόχρωμες γκρι ή με λευκό κέντρο.

Οι αποικίες φωσφορίζουν (κίτρινο - πράσινο) κάτω από λάμπες UV στα 365 nm.

Άλλα αναερόβια βακτήρια που μπορεί να αναπτυχθούν εμφανίζουν άχρωμες αποικίες χωρίς φθορισμό.



### ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

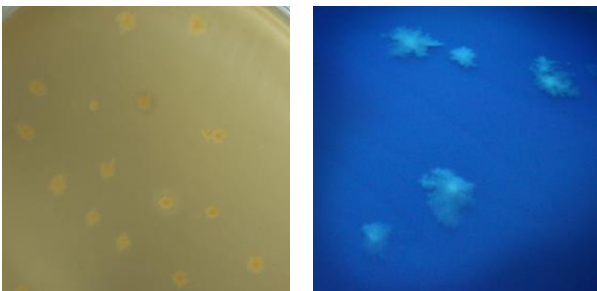
Η τελική ταυτοποίηση πρέπει να γίνεται με βιοχημικούς και ορολογικούς ελέγχους. (π.χ., δοκιμή συγκόλλησης **Microgen C. Difficile Latex Test, κωδικός: M41CE**) και μπορεί να εκτελούνται απευθείας από τις ύποπτες άχρωμες αποικίες *Clostridium* που φθορίζουν στο υπεριώδες φως.

Μια δοκιμή οξειδάσης (Oxidase Test Strips-Code MID-61G) μπορεί να πραγματοποιηθεί απευθείας στην ύποπτη αποικία.

Ορισμένα Gram (-) αρνητικά Βακτηρίδια ανθεκτικά στους αναστολές του υλικού μπορεί να αναπτυχθούν και να δώσουν ψευδώς θετικές αποικίες.

### ΓΕΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ

Μικροοργανισμός	ATCC	Χαρακτηριστικά αποικιών
<i>Clostridium difficile</i>	9689	Αναπτύσσεται (γκρι, αδιαφανείς)
<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Αναστέλλεται
<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Αναστέλλεται
<i>Escherichia coli</i>	25922	Αναστέλλεται
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Αναστέλλεται



*Clostridium difficile*

### ΑΠΟΡΡΙΨΗ ΤΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΣΤΑ ΑΠΟΒΛΗΤΑ

Τα υλικά που δεν παρουσιάζουν καμία ανάπτυξη μπορεί να θεωρηθούν ως μη επικίνδυνα απόβλητα και να απορρίπτονται ανάλογα.  
Τα υλικά που παρουσιάζουν ανάπτυξη αποικιών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις οδηγίες για μολυσματικά ή δυνητικούς μολυσματικά απόβλητα.

Το εργαστήριο είναι υπεύθυνο για τη σωστή διαχείριση των μολυσματικών αποβλήτων σύμφωνα με τη φύση και το βαθμό επικινδυνότητάς τους και πρέπει να τα διαχειρίζεται και να τα απορρίπτει (ή να αναθέτει τη διαχείριση και απόρριψή τους) σύμφωνα με τους εκάστοτε ισχύοντες κανονισμούς.

#### ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

CLOSTRIDIUM DIFFICILE AGAR CCEY (Brazie's)

ΕΙΔΟΣ	ΚΩΔΙΚΟΣ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	ΦΥΛΑΞΗ	ΧΡΟΝΟΣ ΖΩΗΣ
Τρυβλίο 9cm	010035	10 τεμάχια	2 – 8 °C	2 μήνες

Παράγεται στην Ελλάδα από την εταιρεία Bioprepare σύμφωνα με τον κανονισμό (ΕΕ) 2017/746.

ΒΑΣΙΚΟ UDI-DI: 5212037714010401WF. EDMA (14 01 04 01) Non-Chromogenic media (Plates).

Η εταιρεία Bioprepare έχει πιστοποιηθεί σύμφωνα με τα πρότυπα: EN ISO 9001:2015 / ΕΛΟΤ EN ISO 13485:2016 ΔΥ8δ/1348/2004.

#### ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Brazier J.S. (1993) Rôle of the Laboratory in Investigations of Clostridium difficile Diarrhoea. Clinical Infectious Diseases 16 (4) 228-33.

#### ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΚΑΤΑΣΚΕΥΑΣΤΗ IN VITRO



#### Γ. ΠΑΠΑΝΙΚΟΛΑΟΥ & ΣΙΑ Ε.Ε.

ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Ποταμού 5 ΒΙΟ ΠΑ ΚΕΡΑΤΕΑΣ - ΑΤΤΙΚΗ ΤΚ 19001

Τ.Θ. 4893 - Τηλ.: 2299 0 66113 Φαξ: 2299 0 66112.

E-mail: [bioprep1@otenet.gr](mailto:bioprep1@otenet.gr) [www.bioprepare.gr](http://www.bioprepare.gr)