

NADAL[®] C. difficile Toxins A+B/GDH Test (test cassette)

REF 582016N-10



DE	Gebrauchsanweisung	2	Symbols	23
EN	Instructions for use	6	Our Teams	24
ES	Instrucciones de uso	9		
PL	Sposób użycia	13		
PT	Instruções de Utilização	17		

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test ist ein schneller, immunochromatographischer Schnelltest im Lateral-Flow-Format für den qualitativen Nachweis von *Clostridium difficile* Toxin A und Toxin B (C. difficile Toxins A&B) sowie *Clostridium difficile* Glutamatdehydrogenase (C. difficile GDH) in humanen Stuhlproben. Der Test ist als Hilfsmittel bei der Diagnose von *Clostridium difficile*-Infektionen bestimmt und nur für den professionellen Gebrauch ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Clostridium difficile (C. difficile) ist ein anaerobes gram-positives, sporenbildendes Bakterium. Die Fähigkeit von C. difficile zur Sporenbildung ist das Hauptmerkmal, das diesem Bakterium ermöglicht, bei Patienten und in der physischen Umwelt für lange Zeiträume fortzubestehen, und das seine Übertragung erleichtert. C. difficile wird über die fäkal-orale Route übertragen.

C. difficile ist der häufigste Krankenhauskeim, der bei hospitalisierten Patienten mit Antibiotika-assoziiierter Diarrhö und/oder der pseudomembranösen Kolitis in Verbindung gebracht wird. Eine reife bakterielle Dickdarmflora eines gesunden Erwachsenen ist in der Regel resistent gegen eine C. difficile-Kolonisation. Wenn jedoch die normale Darmflora verändert wird, geht die Resistenz gegen die Kolonisation verloren. Somit kann jeder Faktor, der mit Veränderungen der normalen Darmflora im Zusammenhang steht, das Risiko einer C. difficile-Kolonisation nach der Exposition gegenüber Antibiotika, insbesondere solche mit Breitbandwirkung, wie Penicilline, Cephalosporine und Clindamycine, erhöhen.

C. difficile scheidet zwei Toxine mit hochmolekularem Gewicht aus: Toxine A und B, welche für Symptome verantwortlich sind, die vom leichten, selbstlimitierenden wässrigen Durchfall bis zur fulminanten pseudomembranösen Kolitis, oder bis zum toxischen Megakolon und Tod reichen können.

Clostridium difficile Glutamatdehydrogenase (C. difficile GDH) ist ein Enzym, welches in großen Mengen von allen toxischen und nicht-toxischen Stämmen produziert wird, was es zu einem ausgezeichneten Biomarker macht.

3. Testprinzip

Der NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test ist ein schneller, immunochromatographischer Schnelltest im Lateral-Flow-Format für den qualitativen Nachweis von C. difficile Toxin A und Toxin B sowie C. difficile GDH in humanen Stuhlproben.

Die Testkassette besteht aus einem Kunststoffgehäuse, das drei unterschiedliche Teststreifen für den qualitativen Nachweis von C. difficile Toxin A, C. difficile Toxin B oder C. difficile GDH enthält. Farbige, monoklonale anti-C. difficile Toxin A-, anti-C. difficile Toxin B- und anti-C. difficile GDH-Antikörper-kolloidales Gold Konjugate sind auf dem Sample Pad der jeweiligen Membran vorbeschichtet.

Nach der Stuhlprobenentnahme wird die Probe in einem Röhrchen mit Puffer extrahiert und einige Tropfen des Extraktes werden in jede Probenvertiefung der Testkassette gegeben.

Wenn die Probe die Membranen der Streifen entlang wandert, binden markierte Antikörper-Farbstoff-Konjugate an Toxin A-, Toxins B- oder GDH-Antigene (wenn sie in der Probe

vorhanden sind), dabei werden Antikörper-Antigen-Komplexe gebildet. Diese Komplexe binden an anti-Toxin A-, anti-Toxin B- und GDH-Antikörper in den Testlinienbereichen der Testkassette und rufen rosa Linien hervor.

In Abwesenheit von Toxin A, Toxin B oder GDH, erscheinen keine Linien in den jeweiligen Testlinienbereichen der Testkassette. Das Reaktionsgemisch wandert nun weiter die Membranen entlang. Ungebundene Konjugate binden an die Reagenzien in jedem Kontrolllinienbereich, dabei entsteht jeweils eine rosa Linie, die darauf hinweist, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Testkassetten
- 10 Einwegpipetten aus Kunststoff (für flüssige Stuhlproben)
- 10 Probensammelröhrchen mit Puffer (2 mL)
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Lagern Sie unbenutzte Testkassetten ungeöffnet bei 4-30°C. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Die Testkassette ist stabil bis zum auf dem Folienbeutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatum. Frieren Sie die Test-Kits nicht ein.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den professionellen *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.
- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Probensammelröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitätszustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die

Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).

- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.
- Alle Reagenzien und Materialien, die in Kontakt mit potentiell infektiösen Proben kommen, sollten mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt werden oder für mindestens eine Stunde bei 121°C autoklaviert werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Probennahme und -lagerung:

Stuhlproben sollten so bald wie möglich nach Auftreten der Symptome entnommen werden. Gelöste Proben können ohne Interferenz mit der Testleistung für 3 Tage bei 2-8°C gelagert werden. Für eine längere Lagerung von unverdünnten Proben, wird empfohlen, die Proben bei -20°C oder kälter zu lagern. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben wird nicht empfohlen, da es zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

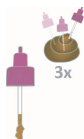
Hinweis: Sammeln Sie keine Proben in Behältern mit Medien, Konservierungsmitteln, Tierseren oder Reinigungsmitteln, da sie mit dem Test interferieren können.

Vorbereitung der Probe:

Kennzeichnen Sie das Probensammelröhrchen mit dem Namen des Patienten oder einer Kontrollidentifikation und dem Datum.

Feste Stuhlproben

Schrauben Sie die Verschlusskappe des Röhrchens ab und stechen Sie den Probennehmer (Spiralstab) in drei verschiedene Stellen des Stuhls, um das Probenvolumen einer Erbse aufzunehmen.



Geben Sie den Probennehmer mit der Stuhlprobe wieder ins Probensammelröhrchen und verschließen Sie dieses gut.

Flüssige Stuhlproben

Entnehmen Sie die Probe mithilfe einer Pipette und fügen Sie 200 µL (5 Tropfen) davon in das Probensammelröhrchen mit Puffer und verschließen Sie dieses gut.

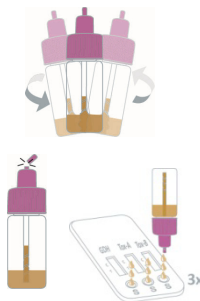
9. Testdurchführung

Bringen Sie die Tests und Proben mit Puffer vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C). Öffnen Sie den Folienbeutel erst, wenn Sie bereits den Test durchzuführen.

1. Entnehmen Sie die NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel.

2. Extrahieren Sie die Probe im Probensammelröhrchen durch längeres, kräftiges Schütteln. Brechen Sie dann die Spitze des Probensammelröhrchens ab.

3. Halten Sie das Probensammelröhrchen senkrecht und geben Sie 3 Tropfen (100 µL) der extra-



hierten Probe in jede Probenvertiefung der Testkassette.

4. Lesen Sie das Ergebnis 10 Minuten nach Zugabe der Probe ab. Nach mehr als 10 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10. Testauswertung

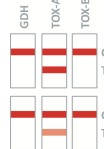
Positiv für GDH:

Eine farbige Linie erscheint in jedem Kontrolllinienbereich „C“ und eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „T“ für GDH.



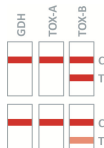
Positiv für Toxin A (TOX A):

Eine farbige Linie erscheint in jedem Kontrolllinienbereich „C“ und eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „T“ für Toxin A (TOX A).



Positiv für Toxin B (TOX B):

Eine farbige Linie erscheint in jedem Kontrolllinienbereich „C“ und eine farbige Linie erscheint im Testlinienbereich „T“ für Toxin B (TOX B).



Hinweis: Eine Kombination positiver Ergebnisse für verschiedene Parameter ist möglich.

Negativ:

Es erscheint jeweils eine farbige Linie in jedem Kontrolllinienbereich „C“. Es erscheinen keine farbigen Linien in den Testlinienbereichen „T“ für GDH, Toxin A (TOX A) und Toxin B (TOX B).



Ungültig:

Mindestens eine Kontrolllinie „C“ erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit nicht alle Kontrolllinien gebildet haben, müssen verworfen werden.



Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit ihrem Distributor in Verbindung.

11. Qualitätskontrolle

Interne Kontrolle:

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt

ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Externe Kontrolle:

Es empfiehlt sich der Einsatz von externen Positiv- und Negativkontrollen zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Tests.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test wurde speziell zum Nachweis von *C. difficile* Toxin A-, *C. difficile* Toxin B- oder *C. difficile* GDH-Antigenen in Stuhlproben entwickelt.
- Wie bei allen *in-vitro*-diagnostischen Verfahren sollte der Arzt die Testergebnisse mit anderen klinischen Methoden bestätigen.
- Ein negatives Ergebnis schließt eine *C. difficile*-Infektion nicht unbedingt aus. Sie kann durch eine proteolytische Verdauung der Toxine aufgrund einer unsachgemäßen Probenlagerung verursacht werden. Wenn ein begründeter Verdacht auf eine Infektion besteht, sollte eine weitere Stuhlprobe getestet werden.
- Ein positives Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer Krankheitserreger nicht aus.
- Die Farbe der Kontroll- und Testlinien kann sich abhängig von der Färbung der Stuhlprobe etwas ändern, z. B. wurden dunkelgrüne Linien (statt rosa Linien) beim Testen grünlicher oder dunklerer Stuhlproben gemeldet. Diese Stuhlfärbung erscheint im Falle einer Behandlung von Eisenmangel mit Eisenumfumarat.

13. Leistungsmerkmale des Tests

GDH

Analytische Sensitivität

Die Leistung des NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Tests wurde anhand einer Reihe von Verdünnungen evaluiert, die aus kommerziell erhältlichem, aufgereinigtem GDH-Antigen zubereitet sind. Die untere Nachweisgrenze des Tests für GDH beträgt 5 ng/mL.

Ein Mitbewerber-GDH-Test zeigte eine analytische Sensitivität von 10 ng/mL beim Testen des gleichen GDH-Antigens.

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Eine Vergleichsstudie zwischen einem DiaSorin Analysegerät und dem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test wurde mit einem Panel von 59 humanen Stuhlproben durchgeführt.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (GDH)	DiaSorin Analysegerät		
		+	-
	+	13	1
	-	3	39
Total		16	40
			56

Diagnostische Sensitivität: 81% (13/16)

Diagnostische Spezifität: 97,5% (39/40)

Gesamtübereinstimmung: 93% (52/56)

Zwei Proben wurden mit dem DiaSorin Analysegerät als fragwürdig identifiziert und eine Probe wurde mit dem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test als zweifelhaft bestimmt. Daher wurden sie nicht in die Berechnung einbezogen.

Kreuzreaktivität

Die folgenden Organismen wurden getestet und zeigten keine Kreuzreaktivität mit dem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test für GDH:

- Campylobacter spp*
- Escherichia coli*
- Helicobacter pylori*
- Listeria monocytogenes*
- Salmonella spp*
- Shigella spp*
- Staphylococcus aureus*
- Yersinia enterocolitica*
- C. difficile* Toxin A
- C. difficile* Toxin B
- Rotavirus
- Adenovirus

Intra-Assay-Reproduzierbarkeit

Die Intra-Assay-Reproduzierbarkeit wurde durch die Testung von 15 Replikaten von drei Probenverdünnungen mit unterschiedlichen GDH-Konzentrationen. Alle Verdünnungsreihen zeigten konvergierende Ergebnisse in Übereinstimmung mit den erwarteten Ergebnissen. Die Intra-Lot-Reproduzierbarkeit des NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Tests beträgt 100% für GDH.

C. difficile Toxin A

Analytische Sensitivität

Die Leistung des C. difficile Toxins A+B/GDH Test wurde anhand einer Reihe von Verdünnungen evaluiert, die aus kommerziell erhältlichem, aufgereinigtem Toxin A-Antigen zubereitet sind. Die untere Nachweisgrenze des Tests für das Toxin A beträgt 4 ng/mL.

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Eine Studie wurde mit 63 Stuhlproben und unter Verwendung des NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Tests im Vergleich zur Zytotoxizität und Zellkulturmethoden durchgeführt.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A)	Zytotoxizität		
		+	-
	+	13	4
	-	2	44
Total		15	48
			63

Alle Proben zeigten identische Ergebnisse anhand der Zytotoxizität und Zellkulturmethoden.

Im Vergleich zur Zytotoxizitätsmethode zeigte der C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A):

Sensitivität: 86,7% (13/15)

Spezifität: 91,7% (44/48)

Kreuzreaktivität

Der NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test zeigte durchweg negative Ergebnisse für Toxin A mit Toxin B-Konzentrationen bis zu 500 ng/mL.

C. difficile Toxin B

Analytische Sensitivität

Die Sensitivität des NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Tests wurde anhand einer Reihe von Verdünnungen evaluiert, die aus kommerziell erhältlichem, aufgereinigtem *C. difficile*

Toxins B-Antigen zubereitet sind. Die untere Nachweisgrenze des Tests für das Toxin B beträgt 5 ng/mL.

Spezifität

Aufgereinigtes *C. difficile* Toxin A-Antigen wurde verwendet, um die Spezifität des NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Tests (Toxin B) zu bestimmen. Der NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test zeigte für Toxin B durchweg negative Ergebnisse mit Toxin A-Konzentrationen bis zu 500 ng/mL.

14. Referenzen

1. Wren, M.W.D., et al. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009
2. Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
3. POUTANEN, S. M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 0, 2016-06-15 OM/UJa

1. Intended Use

The NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test is a lateral flow, immunochromatographic rapid test for the qualitative detection of *Clostridium difficile* Toxin A and Toxin B (C. difficile Toxins A+B) as well as *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase (C. difficile GDH) in human faecal specimens. The test is intended for use as an aid in the diagnosis of *Clostridium difficile* infection and is designed for professional use only.

2. Introduction and Clinical Significance

Clostridium difficile (C. difficile) is an anaerobic gram-positive, spore-forming bacterium. The ability of C. difficile to form spores is the key feature which enables this bacterium to survive in patients and the physical environment for long periods and thereby facilitates its transmission. C. difficile is transmitted by the faecal-oral route.

C. difficile is the principal pathogen related to antibiotic-associated diarrhoea and/or pseudomembranous colitis in hospitalised patients. Mature colonic bacterial flora in a healthy adult is generally resistant to C. difficile colonisation. However, if the normal enteric flora is altered, resistance to colonisation is lost. Any factor associated with alteration of the normal enteric flora increases the risk of C. difficile colonisation after exposure to antibiotics, especially those with broad-spectrum activity such as penicillins, cephalosporins and clindamycin.

C. difficile releases two high-molecular-weight toxins: toxins A and B, which are responsible for the clinical manifestations ranging from mild, self-limiting, watery diarrhoea to fulminant pseudomembranous colitis, toxic megacolon and death.

Clostridium difficile glutamate dehydrogenase (C. difficile GDH) is an enzyme produced in large quantities by all toxigenic and non-toxicogenic strains, making it an excellent biomarker.

3. Test Principle

The NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test is a lateral flow, immunochromatographic rapid test for the qualitative detection of C. difficile Toxin A and Toxin B, as well as C. difficile GDH in human faecal samples.

The test cassette consists of a plastic housing containing three different test strips for the qualitative detection of C. difficile Toxin A, C. difficile Toxin B or C. difficile GDH. Coloured, monoclonal anti-C. difficile Toxin A, anti-C. difficile Toxin B and anti-C. difficile GDH antibodies colloidal gold conjugates are precoated onto the sample pad of the respective membrane.

After sample collection, the faecal sample is extracted in a tube containing buffer and a few drops of this extract are added to each sample well of the test cassette.

As the sample migrates along the membranes, labelled antibody-dye conjugates bind to Toxin A, Toxins B or GDH antigens (if present in the sample), forming antibody-antigen complexes. These complexes bind to the anti-Toxin A, anti-Toxin B and GDH antibodies in the test line regions of the test cassette, producing rose-pink lines.

In the absence of Toxin A, Toxin B or GDH, no lines appear in the corresponding test line region of the test cassette. The reaction mixture continues migrating along the membranes of the test cassette. Unbound conjugates bind to the reagents in

each control line region, producing a rose-pink line, which demonstrates that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH test cassettes
- 10 disposable plastic pipettes (for liquid faecal samples)
- 10 specimen collection tubes with buffer (2 mL)
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Timer

6. Storage & Stability

Store unused test cassettes unopened at 4-30°C. The test cassette must remain in the sealed foil pouch until use. The test cassette is stable until the expiration date printed on the sealed foil pouch. Do not freeze test kits.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Carefully read through the test procedure prior to testing.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Used testing materials should be disposed of according to local regulations.
- All reagents and materials coming into contact with potentially infectious specimens should be treated with appropriate disinfectants or autoclaved at 121°C for at least one hour.

8. Specimen Collection and Preparation

Specimen Collection and Storage:

Stool specimens should be collected as soon as possible after the onset of symptoms. Diluted samples can be stored at 2-

8°C for 3 days without interference with assay performance. For long term storage of undiluted specimens, it is recommended to store the specimens at -20°C or colder. Repeated freezing and thawing of samples is not recommended, as it may cause erroneous results.

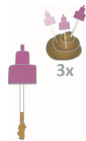
Note: Do not collect specimens in containers containing media, preservatives, animal serum or detergents, as they may interfere with the test.

Specimen preparation:

Label the specimen collection tube with a patient or control identification as well as the date.

Solid faecal specimens

Unscrew the cap of the tube and insert the applicator stick into three different spots of the faecal specimen to collect the sample volume of a pea.



Place the applicator stick, along with the sample, back into the specimen collection tube and close it properly.

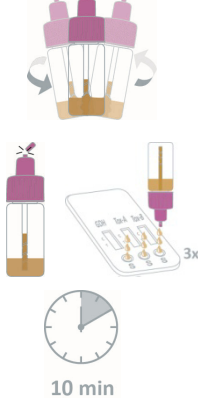
Liquid stool samples

Aspirate the faecal specimen with a pipette, add 200 µL (5 drops) into the specimen collection tube with buffer and close it properly.

9. Test Procedure

Bring the tests and samples with buffer to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open foil pouches until you are ready to perform the assay.

1. Remove the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH test cassette from the sealed foil pouch.
2. Extract the sample in the specimen collection tube by swirling the tube vigorously for a long time. Break off the tip of the specimen collection tube.
3. Holding the specimen collection tube vertically, dispense 3 drops (100 µL) of extracted sample into each sample well of the test cassette.
4. Read the result at 10 minutes after adding the sample to the test cassette. Do not interpret results after more than 10 minutes.



10. Result Interpretation

Positive for GDH:

One coloured line develops in each control line region 'C' and one coloured line develops in the test line region 'T' for GDH.



Positive for Toxin A (TOX A):

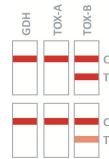
One coloured line develops in each control line region 'C' and one coloured line



develops in the test line region 'T' for Toxin A (TOX A).

Positive for Toxin B (TOX B):

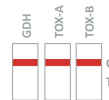
One coloured line develops in each control line region 'C' and one coloured line develops in the test line region 'T' for Toxin B (TOX B).



Note: A combination of positive results for various parameters is possible.

Negative:

One coloured line appears in each control line region 'C'. No coloured lines appear in the test line regions 'T' for GDH, Toxin A (TOX A) and Toxin B (TOX B).



Invalid:

At least one control line 'C' fails to appear. Results from any test which has not produced all control lines at the specified reading time must be discarded.



Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for control line failure. Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your distributor.

11. Quality Control

Internal Control:

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

External Control:

The use of external positive and negative controls is recommended to assure the proper performance of the assay.

12. Limitations

- The NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test is specifically designed to detect *C. difficile* Toxin A, *C. difficile* Toxin B or *C. difficile* GDH antigens in faecal samples.
- As with any *in-vitro* diagnostic procedure, the physician should confirm the test results with other clinical methods.
- A negative result does not necessarily exclude a *C. difficile* infection. It can be caused by proteolytic digestion of the toxins due to improper specimen storage. If a reasonable suspicion of an infection exists, another stool specimen should be tested.
- A positive result does not exclude the presence of other pathogens.
- The colour of control and test lines may slightly change depending on the faecal sample coloration, e.g. dark green lines (instead of pink lines) have been reported when assaying greenish or darkish faecal samples. This stool

coloration appears in case of treatment of iron deficiency with ferrous fumarate.

13. Performance Characteristics

GDH

Analytical sensitivity

The performance of the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test has been evaluated using a range of dilutions prepared from a commercially available purified GDH antigen. The lower detection limit of the test for GDH is 5 ng/mL.

A competitor GDH test showed an analytical sensitivity of 10 ng/mL when the same GDH antigen was assayed.

Diagnostic sensitivity and specificity

A comparative study between DiaSorin analyser and the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test has been performed using a panel of 59 human faecal samples.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (GDH)	DiaSorin analyser			
		+	-	Total
	+	13	1	14
	-	3	39	42
Total		16	40	56

Diagnostic sensitivity: 81% (13/16)

Diagnostic specificity: 97.5% (39/40)

Overall agreement: 93% (52/56)

Two samples were identified as equivocal using the DiaSorin analyser and one sample was found doubtful using the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test. Therefore, they were not included in the calculation.

Cross-reactivity

The following organisms were tested and did not show any cross-reactivity with the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test for GDH:

- *Campylobacter* spp
- *Escherichia coli*
- *Helicobacter pylori*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella* spp
- *Shigella* spp
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *C. difficile* Toxin A
- *C. difficile* Toxin B
- Rotavirus
- Adenovirus

Intra-assay reproducibility

The intra-assay reproducibility was evaluated by testing 15 replicates of three samples dilution containing different GDH concentrations. All series showed converging results in conformance with the expected results. Intra-lot reproducibility of the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test is 100% for GDH.

C. difficile Toxin A

Analytical sensitivity

The performance of the C. difficile Toxins A+B/GDH Test has been evaluated, using a range of dilutions prepared from a

commercially available purified *C. difficile* Toxin A antigen. The lower detection limit of the test for Toxin A is of 4 ng/mL.

Diagnostic sensitivity and specificity

A study was performed on 63 faecal samples, using the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test in comparison with the cytotoxicity and cell culture methods.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A)	Cytotoxicity			
		+	-	Total
	+	13	4	17
	-	2	44	46
Total		15	48	63

All samples showed identical results using the cytotoxicity and the cell culture methods.

Compared to the cytotoxicity method, the C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A) showed

Sensitivity: 86.7% (13/15)

Specificity: 91.7% (44/48)

Cross-reactivity

The NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test showed consistently negative results for Toxin A with Toxin B concentrations of up to 500 ng/mL.

C. difficile Toxin B

Analytical sensitivity

The sensitivity of the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test has been evaluated using a range of dilutions prepared from a commercially available purified *C. difficile* Toxin B antigen. The lower detection limit of the test for Toxin B is 5 ng/mL.

Specificity

A purified *C. difficile* Toxin A antigen was used to determine the specificity of the NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin B). The NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test showed consistently negative results for Toxin B with Toxin A concentrations of up to 500 ng/mL.

14. References

1. Wren, M.W.D, et al. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009
2. Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
3. POUTANEN, S. M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 0, 2016-06-15 OM/UJa

1. Uso previsto

El test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH es un inmunoensayo cromatográfico rápido de flujo lateral, para la detección cualitativa de las toxinas A y B de *Clostridium difficile* (C. difficile Toxins A+B), así como la glutamato deshidrogenasa de C. difficile (C. difficile GDH) en muestras fecales humanas. Este test sirve para ayudar en el diagnóstico de infecciones por *Clostridium difficile* y sólo está indicado para el uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

El *Clostridium difficile* (C. difficile) es una bacteria anaerobia gram-positiva formadora de esporas. La capacidad del C. difficile de formar esporas es la característica clave que permite a la bacteria sobrevivir en el entorno físico durante largos periodos, y facilita su transmisión. El C. difficile se transmite por vía fecal-oral.

El C. difficile es el principal patógeno relacionado con la diarrea asociada a antibióticos y/o colitis pseudomembranosa en pacientes hospitalizados. La flora bacteriana madura del colon de un adulto sano generalmente es resistente a la colonización del C. difficile. Sin embargo, si la flora intestinal normal se altera, se pierde la resistencia a la colonización. Cualquier factor asociado con alteraciones de la flora intestinal normal aumenta el riesgo de colonización de C. difficile después de la exposición a antibióticos, especialmente los que tienen actividad de amplio espectro, como penicilinas, cefalosporinas y clindamicina.

El C. difficile libera dos toxinas de alto peso molecular: las toxinas A y B, que son las responsables de las manifestaciones clínicas que abarcan desde diarrea acuosa suave autolimitante, hasta colitis pseudomembranosa fulminante, megacolon tóxico y la muerte.

La glutamato deshidrogenasa del *Clostridium difficile* (C. difficile GDH) es una enzima producida en grandes cantidades por todas las cepas toxigénicas y no toxigénicas, lo que la convierte en un excelente biomarcador.

3. Principio del test

El test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH es un ensayo inmunocromatográfico rápido de flujo lateral, para la detección cualitativa de las toxinas A y B y la GDH de C. difficile en muestras fecales humanas.

El casete de test está compuesto por una carcasa de plástico que contiene tres tiras reactivas diferentes para la detección cualitativa de las toxinas A y B, o la GDH de C. difficile. Las almohadillas para la muestra de las respectivas membranas se encuentran recubiertas por conjugados coloreados de anticuerpos monoclonales anti-toxina A, anti-toxina B y anti-GDH de C. difficile, con oro coloidal.

Después de la recolección, la muestra fecal se deposita en un tubo que contiene búfer, y se añaden unas gotas de este extracto a cada pocillo para la muestra del casete de test.

Cuando la muestra migra a través de las membranas, los conjugados marcados de anticuerpo-colorante se unen a los antígenos de la toxina A, B o GDH (si están presentes en la muestra), formando complejos anticuerpo-antígeno. Estos complejos se unen a los anticuerpos anti-toxina A, anti-toxina

B y anti-GDH en las áreas de las líneas de test del casete, produciendo líneas de color rosa.

Si no hay presencia de toxina A, B o GDH, no aparecerán líneas en las áreas de test correspondientes del casete. La mezcla reactiva sigue migrando a lo largo de la membrana. Los conjugados no unidos se unen a los reactivos en cada área de la línea de control, produciendo una línea rosa, lo que demuestra que el volumen de la muestra añadido y la reacción de la membrana han sido correctos.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH
- 10 pipetas desechables de plástico (para muestras fecales líquidas)
- 10 tubos para la recolección de la muestra con búfer (2 mL)
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacene los test cerrados a 4-30°C. Mantenga los casetes en dicho envase sellado hasta su uso. El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No congele los kits.

7. Advertencias y precauciones

- Sólo apto para el uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Evite la contaminación cruzada de las muestras utilizando un nuevo recipiente para cada una.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Utilice ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.
- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).

- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Todos los reactivos y materiales que hayan estado en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben ser tratados con desinfectantes apropiados o autoclavados a 121°C durante al menos una hora.

8. Recolección de muestras y preparación

Recolección de la muestra, preparación y almacenamiento:

Las muestras fecales deben recolectarse lo más pronto posible una vez aparecidos los síntomas. Las muestras diluidas se pueden almacenar durante 3 días a 2-8°C sin interferencia en el rendimiento. Para almacenamientos prolongados de muestras no diluidas, se recomienda congelar las muestras a una temperatura de -20°C o inferior. No se recomienda la congelación y descongelación repetida de las muestras, ya que puede causar resultados erróneos.

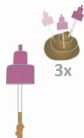
Nota: no recolecte las muestras en recipientes que contengan medios, conservantes, suero animal o detergentes, puesto que pueden interferir en el test.

Preparación de las muestras:

Etiquete el tubo de recolección de la muestra con el nombre del paciente, o una identificación del control, y la fecha.

Muestras fecales sólidas

Desenrosque la tapa del tubo e inserte el aplicador (con forma espiral) en tres puntos diferentes de la muestra fecal para recolectar un volumen de muestra del tamaño de un guisante.



Vuelva a colocar el aplicador, con la muestra, en el tubo recolector y ciérrelo bien.

Muestras fecales líquidas

Aspire la muestra fecal con una pipeta, añada 200 µL (5 gotas) en el tubo de recolección con el bûfer y ciérrelo bien.

9. Procedimiento del test

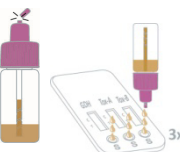
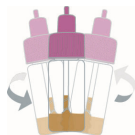
Lleve los dispositivos y las muestras con el bûfer a temperatura ambiente (de 15°C a 30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase hasta que todo esté preparado para comenzar el test.

1. Retire el casete del test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH de su envase sellado.

2. Extraiga la muestra en el tubo de recolección agitándolo con fuerza durante un tiempo prolongado. Rompa la punta del tubo de recolección de la muestra.

3. Sostenga el tubo de recolección verticalmente, añada 3 gotas (100 µL) de la muestra extraída en el pocillo correspondiente del casete.

4. Lea el resultado a los 10 minutos de haber añadido la muestra al casete. No interprete los resultados después de 10 minutos.

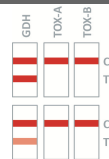


10 min

10. Interpretación del resultado

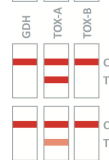
Positivo para GDH:

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C" y otra línea en la región de test "T" para GDH.



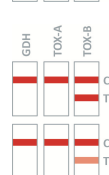
Positivo para toxina A (TOX A):

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C" y otra línea en la región de test "T" para Toxina A (TOX A).



Positivo para toxina B (TOX B):

Aparece una línea coloreada en cada zona de control "C" y otra línea en el área de test "T" para toxina B (TOX B).



Nota: es posible una combinación de resultados positivos para varios parámetros.

Negativo:

Aparece una línea coloreada en cada región de control "C". No aparecen líneas coloreadas en las regiones de test "T" para GDH, toxina A (TOX A) y toxina B (TOX B).



No válido:

Al menos una de las líneas de control "C" no aparece. Si no aparecen las líneas de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y deben descartarse.



Las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control, son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor.

11. Control de calidad

Control interno:

La línea coloreada que aparece en la región de control (C) se considera un control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido suficiente, que la membrana ha reaccionado correctamente y que la técnica del procedimiento ha sido adecuada.

Control externo:

Se recomienda el uso de controles positivos y negativos externos para asegurar el buen funcionamiento del ensayo.

12. Limitaciones

- El test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH está diseñado especialmente para detectar antígenos de toxina A, B o GDH de *C. difficile* en muestras fecales.
- Al igual que con cualquier procedimiento de diagnóstico *in-vitro*, el médico debe confirmar los resultados del test con otros métodos clínicos.
- Un resultado negativo no excluye necesariamente una infección por *C. difficile*. Puede estar causado por la digestión proteolítica de las toxinas debido a un almacenamiento inadecuado de las muestras. Si existe una sospecha razonable de infección, debe analizarse otra muestra fecal.
- Un resultado positivo no excluye la presencia de otros patógenos.
- El color de las líneas de control y de test puede cambiar ligeramente dependiendo de la coloración de la muestra fecal. Se han registrado, por ejemplo, líneas de color verde oscuro (en lugar de líneas de color rosa) cuando se analizan muestras fecales verdosas u oscuras. Esta coloración fecal aparece en caso de un tratamiento para la deficiencia de hierro con fumarato ferroso.

13. Características del rendimiento

GDH

Sensibilidad analítica

Se ha evaluado el rendimiento del test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH utilizando una serie de diluciones preparadas a partir de un antígeno de GDH purificado comercialmente disponible. El límite de detección más bajo del test para GDH es 5 ng/mL.

Un test de GDH competidor mostró una sensibilidad analítica de 10 ng/mL cuando se analizó el mismo antígeno de GDH.

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Se realizó un estudio comparativo entre el analizador DiaSorin y el test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH utilizando un panel de 59 muestras fecales humanas.

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH (GDH)	Analizador DiaSorin		
		+	-
	+	13	1
	-	3	39
Total		16	40
			56

Sensibilidad de diagnóstico: 81% (13/16)

Especificidad de diagnóstico: 97,5% (39/40)

Concordancia general: 93% (52/56)

Se identificaron dos muestras como poco concluyentes con el analizador DiaSorin y una muestra dudosa con el test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH. Por esta razón, no se han incluido en el cálculo.

Reacciones cruzadas

Se analizaron los siguientes organismos y no mostraron reacciones cruzadas con el test NADAL® C. difficile A+B/GDH para GDH:

- Campylobacter spp*
- Escherichia coli*
- Helicobacter pylori*
- Listeria monocytogenes*

- Salmonella spp*
- Shigella spp*
- Staphylococcus aureus*
- Yersinia enterocolitica*
- C. difficile* Toxina A
- C. difficile* Toxina B
- Rotavirus
- Adenovirus

Reproducibilidad intraensayo

Se evaluó la reproducibilidad intraensayo con 15 réplicas de 3 diluciones de muestras con diferentes concentraciones de GDH. Todas las series mostraron resultados convergentes en conformidad con los resultados esperados. La reproducibilidad del test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH es del 100% para GDH.

Toxina A de *C. difficile*

Sensibilidad analítica

Se ha evaluado el rendimiento del test utilizando una serie de diluciones preparadas a partir de un antígeno de toxina A purificado comercialmente disponible. El límite de detección más bajo del test para toxina A es de 4 ng/mL.

Sensibilidad y especificidad de diagnóstico

Se realizó un estudio en 63 muestras, utilizando el test NADAL® C. difficile A+B/GDH en comparación con los métodos de citotoxicidad y cultivo celular.

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A)	Citotoxicidad		
		+	-
	+	13	4
	-	2	44
Total		15	48
			63

Todas las muestras presentaron resultados idénticos utilizando los métodos de citotoxicidad y de cultivo celular.

En comparación con el método de citotoxicidad, el test de *C. difficile* Toxin A+B/GDH Test (toxina A) mostró:

Sensibilidad: 86,7% (13/15)

Especificidad: 91,7% (44/48)

Reacciones cruzadas

El test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH mostró resultados negativos consistentes para toxina A con concentraciones de toxina B de hasta 500 ng/mL.

Toxina B de *C. difficile*

Sensibilidad analítica

Se evaluó el rendimiento del test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH utilizando una serie de diluciones preparadas a partir de un antígeno de toxina B purificado comercialmente disponible. El límite de detección más bajo del test para toxina B es de 5 ng/mL.

Especificidad

Se utilizó un antígeno purificado de *C. difficile* Toxin A para determinar la especificidad del test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH (toxina B). El test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH mostró resultados negativos consistentes para toxina B con concentraciones de toxina A de hasta 500 ng/mL.

14. Referencias

- Wren, M.W.D, et al. "Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and

- toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009
2. Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
 3. POUTANEN, S. M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 0, 2016-06-15 MP

1. Zastosowanie

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jest szybkim testem immunochromatograficznym typu Lateral Flow do jakościowego oznaczania *Clostridium difficile* toksyn A i toksyn B (*C. difficile* Toxins A+B) jak również *Clostridium difficile* dehydrogenazy glutaminianowej (*C. difficile* GDH) w ludzkich próbkach kału. Test ten służy jako środek pomocniczy przy diagnozie infekcji *Clostridium difficile* i przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego użytku.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Clostridium difficile (*C. difficile*) jest tlenową gram-dodatnią bakterią, tworzącą przetrwalniki. Zdolność *C. difficile* do wytwarzania przetrwalników jest główną cechą, umożliwiającą tej bakterii długie przetrwanie u pacjentów w ich fizycznym otoczeniu oraz ułatwia jej przenoszenie. *C. difficile* przenoszone jest drogą fekalno-oralną.

C. difficile jest najczęstszym zarazkiem szpitalnym, z którym powiązani są hospitalizowani pacjenci posiadający biegunkę poantybiotykową lub rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego. Dojrzała flora bakteryjna jelita grubego dorosłej osoby, jest z reguły odporna na kolonizację *C. difficile*. Gdy jednak normalna flora bakteryjna jelita zostanie zmieniona, odporność na kolonizację zanika. W taki sposób każdy czynnik, który powiązany jest z normalną florą bakteryjną jelita, może podwyższyć ryzyko kolonizacji *C. difficile* po ekspozycji na antybiotyki, w szczególności takie o szerokim spektrum działania, jak penicylina, cefalosporyna i klindamycyna.

C. difficile może wydalać dwie toksyny o wysoko nuklearnym ciężarze: toksyny A i B, które odpowiedzialne są za kliniczne manifestacje, mogą spowodować samoistnie ustępującą wodnistą biegunkę, piorunujące rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego, jak również toksyczne rozszerzenie okrężnicy, a nawet śmierć.

Clostridium difficile dehydrogenazy glutaminianowej (*C. difficile* GDH) jest enzymem, który w dużych ilościach produkowany jest przede wszystkim przez toksyczne i nietoksyczne szczepy, co czyni je znakomitą biomarkerem.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jest szybkim testem immunochromatograficznym typu Lateral Flow do jakościowego oznaczania toksyn A i toksyn B *C. difficile* jak również *C. difficile* GDH w ludzkich próbkach kału.

Test kasetowy składa się z obudowy z tworzywa sztucznego, trzech różnych pasków testowych do jakościowego oznaczania *C. difficile* toksyn A, *C. difficile* toksyn B lub *C. difficile* GDH. Kolorowe, monoklonalne koniugaty koloidalnego złota i przeciwciała przeciw *C. difficile* toksyn A-, przeciw *C. difficile* toksyn B oraz przeciw *C. difficile* GDH są wstępnie powleczone na każdej membranie.

Po pobraniu próbki kału, próbka zostaje ekstrahowana z buforem w próbce. Następnie kilka kropli ekstraktu dodawanych jest do każdego zagłębienia na próbkę na kaseci testowej.

Jeżeli próbka wędruje wzdłuż membrany, oznaczone barwniki koniugaty przeciwciał wiążą się w antygenami toksyn A, toksyn B lub antygenami GDH (jeżeli są zawarte w próbce). Powstają przy tym kompleksy antygen-

przeciwciała. Kompleksy te wiążą przeciwciała przeciw toksynie A, przeciw toksynie B oraz GDH w obszarze linii testowej kasety testowej i powodują pojawienie się różowych linii.

Podczas nieobecności toksyn A, toksyn B lub GDH, nie pojawiają się linie w danym obszarze testowym testu kasetowego. Mieszanina wędruje dalej wzdłuż membrany. Niezwiązane koniugaty wiążą się z odczynnikami w każdym obszarze linii kontrolnej, przy czym każdorazowo powstaje różowa linia, która wskazuje, że dodana została wystarczająca ilość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH
- 10 pipet jednorazowych z tworzywa sztucznego (dla płynnych próbek kału)
- 2 próbki z buforem (2 mL)
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Przechowywać zamknięte testy kasetowe w temperaturze 4-30°C. Kaseta testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Test kasetowy jest stabilny do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Nie zamrażać zestawów testowych.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały odczynniki zakaźne. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantuje braku przenoszonych



10 min

patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać połknięcia lub wdychania).

- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.
- Wszystkie odczynniki i materiały, które mają kontakt z potencjalnie zakaźnymi próbkami, powinny być zdezynfekowane odpowiednim środkiem lub poddane procesowi autoklawu, przez przynajmniej jedną godzinę w temperaturze 121°C.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobieranie i przechowywanie próbek:

Próbki kału powinny być pobrane jak najszybciej po wystąpieniu objawów. Rozpuszczone próbki bez interferencji z wydajnością testu, mogą być przechowywane przez 3 dni w temperaturze 2-8°C. Dla dłuższego przechowywania nierozpuszczonych próbek, zaleca się przechowywanie próbek w temperaturze -20°C lub zimniej. Nie zaleca się ponownego rozmrażania i zamrażania próbek, ponieważ może to prowadzić do fałszywych wyników.

Wskazówka: Nie zbierać próbek do pojemników z nośnikami, środkami konserwującymi, surowicami zwierzęcymi lub środkami czyszczącymi, ponieważ mogą one interferować z testem.

Przygotowanie próbek:

Oznaczyć próbki nazwiskiem pacjenta lub identyfikacją kontrolną oraz datą.

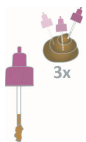
Stałe próbki kału

Odkręcić nakrętkę próbówki i nakłuć spiralną częścią nakrętki trzy różne miejsca kału, aby pobrać ilość próbki wielkości ziarnka grochu.

Włożyć nakrętkę wraz z próbką kału z powrotem do próbówki i zamknąć ją dobrze.

Płynne próbki kału

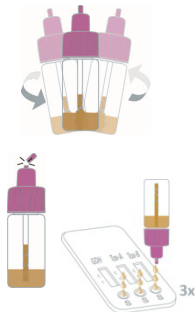
Pobrać próbkę przy pomocy pipety i dodać 200 µL (5 kropli) do próbówki z buforem i zamknąć ją dokładnie.



9. Przeprowadzanie testu

Przed rozpoczęciem testu doprowadzić testy oraz próbkę z buforem do temperatury pokojowej (15-30°C). Otworzyć opakowanie foliowe dopiero tuż przed przeprowadzeniem testu.

1. Wyciągnąć kasety testową NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH z zamkniętego opakowania foliowego.
2. Wyekstrahować próbkę w próbówce poprzez długie, energiczne potrząsanie. Wylamać końcówkę próbówki.
3. Trzymać próbówkę pionowo i dodać trzy krople (100 µL) wyekstrahowanej próbki do każdego zagłębienia na próbkę na kasce testowej.

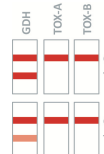


4. Wynik odczytać po 10 minutach od naniesienia próbek. Nie interpretować wyników po upływie więcej jak 10 minut.

10. Interpretacja wyników

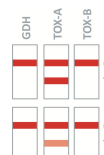
Pozytywny dla GDH:

Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C” i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T” dla GDH.



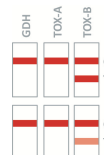
Pozytywny dla toksyn A (TOX A):

Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C” i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T” dla toksyn A (TOX A).



Pozytywny dla toksyn B (TOX B):

Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C” i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T” dla toksyn B (TOX B).



Wskazówka: kombinacja pozytywnych parametrów dla różnych parametrów jest możliwa.

Negatywny:

Każdorazowo pojawi się kolorowa linia w każdym obszarze kontrolnym „C”. Nie pojawiają się kolorowe linie w obszarze linii testowej „T” dla GDH, toksyn A (TOX A) i toksyn B (TOX B).



Nieważny:

Przynajmniej jedna linia kontrolna „C” się nie pojawi. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnych, muszą zostać odrzucone.



Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniej przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kontrola jakości

Wewnętrzna kontrola:

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Zewnętrzna kontrola:

Zaleca się zastosowanie zewnętrznych kontroli pozytywnych i negatywnych do oznaczania właściwej wydajności testów.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH został specjalnie skonstruowany do oznaczania antygenów *C. difficile* toksyn A, *C. difficile* toksyn B lub *C. difficile* GDH.
- Jak przy wszystkich procesach diagnostycznych *in-vitro*, lekarz powinien potwierdzić wynik przy pomocy innych metod klinicznych.
- Negatywny wynik nie konieczne wyklucza infekcję *C. difficile*. Może ona być spowodowana przez proteolityczne trawienie toksyn, spowodowane niewłaściwym przechowywaniem próbek. Jeżeli istnieje uzasadnione podejrzenie infekcji, powinna zostać przebadana kolejna próbka kału.
- Pozytywny wynik nie wyklucza obecności innych czynników chorobotwórczych.
- Kolor linii kontrolnych i testowych może nieco się zmieniać się, w zależności od koloru próbki kału, np. pojawiły się ciemnoniebieskie linie (zamiast linii różowych) podczas badania zielonego lub ciemnozielonego kału. Takie zabarwienie kału następuje w przypadku leczenia niedoboru żelaza fumaranem żelaza.

13. Charakterystyka testu**GDH****Czułość analityczna**

Wydajność testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które przygotowano zostały z komercyjnie dostępnych wyczyszczonych antygenów GDH. Dolna granica wykrywalności testu dla GDH wynosi 5 ng/mL.

Test GDH z konkurencji wykazał analityczną czułość na poziomie 10 ng/mL podczas testowania tego samego antygeny GDH.

Czułość i swoistość diagnostyczna:

Przeprowadzono badanie porównawcze pomiędzy analizatorem DiaSorin i testem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH, używając w tym celu panelu 59 ludzkich próbek kału.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (GDH)	Analizator DiaSorin		
		+	-
	+	13	1
	-	3	39
Suma		16	40
			56

Czułość diagnostyczna: 81% (13/16)

Swoistość diagnostyczna: 97,5% (39/40)

Ogólna zgodność: 93% (52/56)

Dwie próbki zostały zidentyfikowane przy pomocy analizatora DiaSorin jako wątpliwe i jedna próbka została oznaczona przy pomocy testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jako niepewna. Dlatego nie zostały one uwzględnione w obliczeniach.

Reakcje krzyżowe

Następujące organizmy zostały przebadane i nie wykazywały żadnej reakcji krzyżowej z testem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH dla GDH:

- *Campylobacter spp*
- *Escherichia coli*
- *Helicobacter pylori*
- *Listeria monocytogenes*
- *Salmonella spp*
- *Shigella spp*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *C. difficile* Toksyna A
- *C. difficile* Toksyna B
- Rotawirus
- Adenowirus

Powtarzalność śródttestowa

Powtarzalność śródttestowa została ustalona na podstawie badania 15 replikatów trzech rozcieńczeń próbek, z różnymi stężeniami GDH. Wszystkie szeregi rozcieńczeń wykazały wyniki zbliżone z oczekiwanymi wynikami. Powtarzalność śródttestowa testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wynosi 100% dla GDH.

C. difficile Toksyna A**Czułość analityczna**

Wydajność testu C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które zostały przygotowane z komercyjnie dostępnych, wyczyszczonych antygenów toksyny A. Dolna granica wykrywalności testu dla toksyn A wynosi 4 ng/mL.

Czułość i swoistość diagnostyczna:

Przeprowadzone zostało badanie 63 próbek kału, przy zastosowaniu testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH, w porównaniu do cytotoksyczności oraz metody hodowli komórek.

NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A)	Cytotoksyczność		
		+	-
	+	13	4
	-	2	44
Suma		15	48
			63

Wszystkie próbki wykazały identyczne wyniki na podstawie cytotoksyczności oraz metod hodowli komórek.

W porównaniu do metody cytotoksyczności, test C. difficile Toxins A+B/GDH Test (toksyny A), wykazał:

Czułość: 86,7% (13/15)

Swoistość: 91,7% (44/48)

Reakcje krzyżowe

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wykazywał niezmiennie negatywne wyniki dla toksyny A ze stężeniami toksyn B do 500 ng/mL.

C. difficile Toksyna B**Czułość analityczna**

Czułość testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które przygotowano zostały z komercyjnie dostępnego, wyczyszczonego antygeny toksyn B *C. difficile*. Dolna granica wykrywalności testu dla toksyn B wynosi 5 ng/mL.

Swoistość

Zastosowany został oczyszczony antygen *C. difficile* toksyny A, aby określić swoistość testu NADAL® C. difficile Toxins

A+B/GDH Tests (toksyna B). Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wykazywał niezmiennie negatywne wyniki dla toksyn B ze stężeniami toksyn A do 500 ng/mL.

14. Bibliografia

1. Wren, M.W.D, et al. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009
2. Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
3. POUTANEN, S. M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 0, 2016-06-15 AM

1. Uso previsto

O teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH é um teste rápido de imunocromatográfico de fluxo lateral para a detecção qualitativa da Toxina A e Toxina B de *Clostridium difficile* (*C. difficile* Toxinas A&B) e *Clostridium difficile* glutamato desidrogenase (*C. difficile* GDH) em espécimes fecais humanos. O teste foi concebido para auxiliar no diagnóstico de infeção de *Clostridium difficile* e serve apenas para utilização profissional.

2. Introdução e Significado Clínico

Clostridium difficile (*C. difficile*) é uma bactéria anaeróbica gram-positiva, formadora de esporos. A capacidade de *C. difficile* formar esporos é a principal característica que permite esta bactéria para sobreviver em pacientes e em ambiente físico por longos períodos e, assim, facilita a sua transmissão. *C. difficile* é transmitida pela via fecal-oral.

C. difficile é o patógeno principal relacionado à diarreia associada a antibióticos e/ou colite pseudomembranosa em pacientes hospitalizados. A flora bacteriana colónica madura em um adulto saudável é geralmente resistente à colonização por *C. difficile*. No entanto, se a flora entérica normal é alterada, a resistência à colonização é perdida. Qualquer fator associado à alteração da flora entérica normal aumenta o risco de colonização por *C. difficile* após exposição a antibióticos, especialmente aqueles com atividade de espectro amplo, tais como penicilinas, cefalosporinas e clindamicina.

C. difficile liberta duas toxinas de alto peso molecular: Toxinas A e B, que são responsáveis pelas manifestações clínicas que vão desde leve, auto-limitante, diarreia aquosa a colite pseudomembranosa fulminante, megacólon tóxico e morte.

Clostridium difficile glutamato desidrogenase (*C. difficile* GDH) é uma enzima produzida em grandes quantidades por todas as estirpes toxigénicas e não tóxicas, tornando-se um excelente biomarcador.

3. Princípio do Teste

O teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH é um teste rápido de fluxo lateral, imunocromatográfico para a detecção qualitativa de Toxina A e B de *C. difficile*, bem como *C. difficile* GDH em amostras fecais humanas.

O teste cassete consiste em um invólucro de plástico contendo três tiras de teste diferentes para a detecção qualitativa de *C. difficile* Toxina A, *C. difficile* Toxina B e *C. difficile* GDH. Conjugados de anticorpos de ouro coloidal coloridos, monoclonais anti-*C. difficile* Toxina A, anti-*C. difficile* Toxina B e anti-*C. difficile* GDH são pré-revestidos na almofada de amostra da respectiva membrana.

Após a colheita da amostra, a amostra fecal é extraída num tubo contendo tampão e algumas gotas deste extracto são adicionadas a cada poço de amostra da cassete de teste.

À medida que a amostra migra ao longo das membranas, o conjugado anticorpo-corante marcado liga-se aos antígenos Toxina A, Toxina B ou GDH (se presentes na amostra), formando complexos anticorpo-antígeno. Estes complexos ligam-se aos anticorpos anti-Toxina A, anti-Toxina B e GDH nas regiões de linha de teste da cassete de teste, produzindo linhas rosadas.

Na ausência de Toxina A, Toxina B ou GDH, não aparecem linhas na região de linha de teste correspondente da cassete de teste. A mistura reaccional continua a migrar ao longo das membranas da cassete de teste. Os conjugados não ligados ligam-se aos reagentes em cada região da linha de controlo, produzindo uma linha cor-de-rosa, o que demonstra que o volume apropriado da amostra foi adicionado e a absorção da membrana ocorreu.

4. Reagentes e Materiais Fornecidos

- 10 testes cassete NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH
- 10 pipetas de plástico descartáveis (para amostras fecais líquidas)
- 10 tubos de recolha de amostra com tampão (2 mL)
- 1 manual de utilização

5. Materiais Adicionais Necessários

- Cronómetro

6. Conservação & Armazenamento

Conservar as cassetes não utilizadas seladas entre 4-30°C. O teste cassete deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. A cassete de teste encontra-se estável até à data de validade indicada na embalagem. Não congelar os kits de teste.

7. Advertências e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Ler atentamente o manual de utilização antes de realizar o teste.
- Não utilizar o teste após expirada a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar caso a embalagem se encontre danificada.
- Não reutilizar os testes.
- Não adicionar amostras à área de reação (área de resultados).
- De modo a evitar uma contaminação, evitar o contacto com a área de reação (área de resultados).
- Evitar a contaminação cruzada dos espécimes utilizando um novo tubo de recolha de amostras para cada espécime obtido.
- Não substituir ou misturar componentes de diferentes kits de teste.
- Humidade e temperatura podem afectar negativamente os resultados do teste.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes.
- Utilizar vestuário de protecção como batas, luvas descartáveis e protecção ocular enquanto manuseando amostras.
- Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as regulamentações estabelecidas respeitantes a riscos microbiológicos e ao tratamento de resíduos durante todos os procedimentos.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O certificado de origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (e.g., não ingerir ou inalar).

- Materiais de testes usados devem ser descartados de acordo com as regulamentações locais.
- Todos os reagentes e materiais que entram em contacto com amostras potencialmente infecciosas devem ser tratados com desinfetantes apropriados ou autoclavados a 121°C durante pelo menos uma hora.

8. Preparação e Recolha da Amostra

Recolha e conservação de amostras:

As amostras de fezes devem ser recolhidas o mais rapidamente possível após o início dos sintomas. As amostras diluídas podem ser armazenadas a 2-8°C durante 3 dias sem interferência com o desempenho do ensaio. Para armazenamento de amostras diluídas a longo prazo, recomenda-se armazenar os espécimes a -20°C ou mais frio. O congelamento e descongelamento repetido de amostras não é recomendado, pois pode causar resultados erróneos.

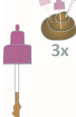
Aviso: Não coletar espécimes em recipientes contendo meios, conservantes, soro animal ou detergentes, pois podem interferir com o teste.

Preparação da amostra:

Rotular o tubo de colheita de amostra com a identificação ou controle de um paciente, bem como a data.

Espécimes fecais sólidos

Desapertar a tampa do tubo e inserir o aplicador em três pontos diferentes da amostra fecal para recolher o volume da amostra de uma ervilha.



Colocar o aplicador, junto com a amostra, de volta para o tubo de coleta de amostra e fechar corretamente.

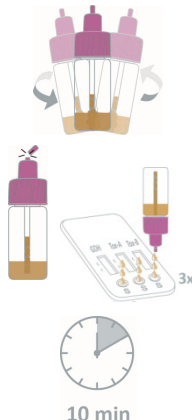
Amostras de fezes líquidas

Aspirar a amostra fecal com uma pipeta, adicionar 200 µL (5 gotas) no tubo de coleta de amostra com tampão e fechar corretamente.

9. Procedimento do Teste

Trazer os testes e amostras com a solução tampão à temperatura ambiente (15-30°C) antes de iniciar o teste. Não abrir a embalagem antes de estar preparado para a realização do ensaio.

1. Remova a cassette de teste NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH da bolsa de alumínio selada.
2. Extrair a amostra no tubo de recolha da amostra rodando o tubo vigorosamente durante um longo período de tempo. Quebrar a ponta do tubo de recolha da amostra.
3. Segurar o tubo de colheita de amostra verticalmente, distribuir 3 gotas (100 µL) de amostra extraída em cada poço de amostra da cassette de teste.
4. Leia o resultado 10 minutos depois de adicionar a amostra à cassette de teste. Não interpretar



os resultados após decorridos mais de 10 minutos.

10. Interpretação dos Resultados

Positivo para GDH:

Uma linha colorida surge em cada zona de controlo "C" e uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste "T" GDH.



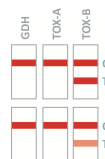
Positivo para Toxina A (TOX A):

Uma linha colorida surge em cada zona de controlo "C" e uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste "T" para Toxina A (TOX A).



Positivo para Toxina B (TOX B):

Uma linha colorida surge em cada zona de controlo "C" e uma linha colorida desenvolve-se na região da linha de teste "T" para Toxina B (TOX B).



Nota: É possível uma combinação de resultados positivos para vários parâmetros.

Negativo:

Uma linha colorida surge na região da linha de controlo "C". Não aparecem linhas coloridas nas regiões de linha de teste "T" para GDH, Toxina A (TOX A) e Toxina B (TOX B).



Inválido:

Pelo menos uma linha de controle 'C' não aparece. Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo no tempo de leitura especificado deverão ser desconsiderados.



As razões mais prováveis para um resultado inválido são o volume da amostra, erros procedurais ou testes expirados. Por favor, rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassette. Se o problema persistir, interromper a utilização do kit e contactar o distribuidor.

11. Controlo de Qualidade

Controlo interno:

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e o procedimento técnico correto.

Controlo externo:

É recomendado o uso de controlos positivos e negativos externos para garantir o bom desempenho do ensaio.

12. Limitações

- O teste NADAL® C. difficile toxinas A+B/GDH é especificamente concebido para detectar antígenos de *C. difficile* Toxina A, *C. difficile* Toxina B e *C. difficile* GDH em amostras fecais.
- Como com qualquer procedimento de diagnóstico *in-vitro*, o médico deve confirmar os resultados do teste com outros métodos clínicos.
- Um resultado negativo não exclui necessariamente uma infecção por *C. difficile*. Pode ser causada pela digestão proteolítica das toxinas devido ao armazenamento inadequado da amostra. Se existir uma suspeita razoável de uma infecção, outra amostra de fezes deve ser testada.
- Um resultado positivo não exclui a presença de outros patógenos.
- A cor das linhas de controlo e teste pode variar ligeiramente dependendo da coloração da amostra fecal, por exemplo, foram assinaladas linhas verdes escuras (em vez de linhas cor-de-rosa) ao ensaiar amostras fecais esverdeadas ou escuras. Esta coloração de fezes aparece no caso de tratamento de deficiência de ferro com fumarato ferroso.

13. Características de Desempenho

GDH

Sensibilidade analítica

O desempenho do teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH foi avaliado utilizando uma gama de diluições preparadas a partir de um antígeno GDH purificado comercialmente disponível. O limite de detecção mais baixo para o teste de GDH é 5 ng/mL.

Um teste GDH de um concorrente mostrou uma sensibilidade analítica de 10 ng/mL quando o mesmo antígeno de GDH foi ensaiado.

Sensibilidade e especificidade diagnósticas

Foi realizado um estudo comparativo entre o analisador de DiaSorin e a performance do teste NADAL® C. difficile de toxinas A+B/GDH utilizando um painel de 59 amostras fecais humanas.

teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH (GDH)	Analisador DiaSorin			
		+	-	Total
	+	13	1	14
	-	3	39	42
Total		16	40	56

Sensibilidade do diagnóstico: 81% (13/16)

Especificidade do diagnóstico: 97,5% (39/40)

Concordância geral: 93% (52/56)

Duas amostras foram identificadas como equívocas usando o analisador de DiaSorin e uma amostra foi considerada duvidosa usando o teste NADAL® C. difficile de toxinas A+B/GDH. Portanto, eles não foram incluídos no cálculo.

Reação Cruzada

Os seguintes organismos foram testados e não mostraram qualquer reactividade cruzada com o teste NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH para GDH:

- Campylobacter* spp
- Escherichia coli*
- Helicobacter pylori*

- Listeria monocytogenes*
- Salmonella* spp
- Shigella* spp
- Staphylococcus aureus*
- Yersinia enterocolitica*
- C. difficile* Toxina A
- C. difficile* Toxina B
- Rotavírus
- Adenovírus

Reprodutibilidade intra-ensaio

A reprodutibilidade intra-ensaio foi avaliada testando 15 repetições de três amostras de diluição contendo diferentes concentrações de GDH. Todas as séries apresentaram resultados de convergência em conformidade com os resultados esperados. A reprodutibilidade intra-lotes do teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH é de 100% para GDH.

C. difficile Toxina A

Sensibilidade analítica

O desempenho do teste C. difficile Toxinas A+B/GDH foi avaliado utilizando uma gama de diluições preparadas a partir de um antígeno C. difficile Toxin A purificado comercialmente disponível. O limite de detecção mais baixo para o teste de Toxina A é 4 ng/mL.

Sensibilidade e especificidade diagnósticas

Realizou-se um estudo em 63 amostras de fezes, utilizando o teste de toxinas NADAL® C. difficile A+B/GDH em comparação com os métodos de citotoxicidade e cultura celular.

teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH (Toxina A)	Citotoxicidade			
		+	-	Total
	+	13	4	17
	-	2	44	46
Total		15	48	63

Todas as amostras apresentaram resultados idênticos utilizando a citotoxicidade e os métodos de cultura celular.

Comparado com o método de citotoxicidade, o teste de C. difficile Toxinas A+B/GDH (Toxina A) mostrou

Sensibilidade: 86,7% (13/15)

Especificidade: 91,7% (44/48)

Reação Cruzada

O teste NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH mostrou consistentemente resultados negativos para Toxina A com concentrações de Toxina B de até 500 ng/mL.

C. difficile Toxina B

Sensibilidade analítica

O desempenho do teste C. difficile Toxinas A+B/GDH foi avaliado utilizando uma gama de diluições preparadas a partir de um antígeno C. difficile Toxin B purificado comercialmente disponível. O limite de detecção mais baixo para o teste de Toxina B é 5 ng/mL.











Especificidade











Utilizou-se um antígeno de C. difficile Toxina A purificado para determinar a especificidade do teste NADAL® C. difficile Toxinas A+B/GDH (Toxina B). O teste NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH mostrou consistentemente resultados negativos para Toxina B com concentrações de Toxina A de até 500 ng/mL.

14. Referências

1. Wren, M.W.D, et al. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009
2. Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indican J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
3. POUTANEN, S. M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 0, 2016-06-15 AL

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conformité aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	In-vitro-Diagnostika	In-vitro diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Tylko do diagnostyki in vitro
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeas	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro	In vitro - diagnostikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för in vitro-diagnostik	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek	Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik	In-vitro diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur-begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur-begrænsning	Temperatur begrensning
	Código de lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merking
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Bestilingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for <n> tester

Our Teams

Germany:

Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel – UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16
Lux. Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel. Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries (Finland, Norway, Sweden, Denmark):

Tel: +31 703075 607
Free Tel: +45 80 88 87 53
Tax: +31 703030 775

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1