

NADAL[®] C. difficile Toxins A&B Test (test cassette)

REF 582008



DE	Gebrauchsanweisung	2	PL	Sposób użycia	15
EN	Instruction for use	5		Symbols	20
FR	Instructions d'utilisation	7		Our Teams	20
ES	Instrucciones de uso	10			
IT	Istruzioni per l'uso	13			



1. Verwendungszweck oder Anwendungsbereich

Der NADAL® C. difficile Toxins A&B Test ist ein schneller Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *C. difficile* Toxin A&B-Antigenen in humanen Stuhlproben als Hilfsmittel bei der Diagnose von einer *C. difficile*-Infektion.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Clostridium difficile ist ein anaerobes, grampositives, endosporenbildendes Bakterium. Der Schlüsselfaktor, der seine Persistenz bei Patienten und in der physischen Umgebung ermöglicht und dabei seine Übertragung erleichtert, ist die Fähigkeit von *C. difficile* Sporen zu bilden. Die Übertragung von *C. difficile* erfolgt fäkal-oral.

Clostridium difficile ist der Hauptkrankheitserreger der Antibiotika-assoziierten Diarrhö und/oder der pseudomembranösen Kolitis bei hospitalisierten Patienten. Die ausgereifte Dickdarmbakterienflora bei einem gesunden Erwachsenen ist generell resistent gegen eine *C. difficile* Kolonisierung. Wenn jedoch die normale Dickdarmflora verändert wird, geht die Resistenz gegen eine *C. difficile* Kolonisierung verloren. Somit kann jeder Faktor, der mit der Veränderung der normalen Darmflora verbunden ist, das Risiko von einer *C. difficile* Kolonisierung nach der Verwendung von Antibiotika, insbesondere nach denen mit Breitbandwirkung, wie Penicillin, Cefalosporin und Clindamycin, erhöhen.

C. difficile kann zwei hochmolekulare Toxine, Toxin A und Toxin B, freigegeben, die für die klinische Manifestation mit einer Breitenbreite von einer milden, selbstbegrenzenden wässrigen Diarrhö bis einer fulminanten pseudomembranösen Kolitis, toxischem Megakolon und Tod verantwortlich ist.

3. Testprinzip

Der NADAL® C. difficile Toxin A&B Test ist ein qualitativer Immunoassay für den Nachweis von *C. difficile* Toxin A und Toxin B Antigenen in Humanstuhlproben. Die Membran ist mit Antikörpern gegen die Antigene Toxin A und Toxin B in jeweils einem Testlinienbereich vorbeschichtet. Während des Tests binden sich die Antigene aus der Probe an die Anti-Toxin A Antikörper und Anti-Toxin B Antikörper auf dem Konjugat-Pad. Die Mischung wandert durch Kapillarkraft über die Membran. Im Falle eines positiven Ergebnisses reagieren die in den Testlinienbereichen vorbeschichteten Antikörper mit der Konjugatmischung und es erscheinen eine oder zwei rote Linien. Eine grüne Linie (dritte Linie) sollte immer im Bereich der Kontrolllinie erscheinen. Sie dient als interne Testkontrolle und als Bestätigung, dass ein ausreichendes Probenvolumen hinzugefügt wurde und dass die Flüssigkeit die Membran vollständig durchdrungen hat.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® C. difficile Toxins A&B Testkassetten
- 10 Probensammelröhrchen
- Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Einweghandschuhe
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Wie abgepackt im verschlossenen Beutel entweder bei Raumtemperatur oder gekühlt (2-30°C) lagern. Der Test ist bis zu dem auf dem verschlossenen Beutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Testkassette sollte bis zur Verwendung im verschlossenen Beutel bleiben. Nicht einfrieren.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für die *in-vitro* Diagnostik durch Fachkundige bestimmt.
- Nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
- Die Testkassette erst unmittelbar vor der Testdurchführung aus dem Folienbeutel nehmen.
- Den Teststreifen nicht verwenden, wenn der Beutel beschädigt ist.
- Alle mit der Verwendung des Tests verbundenen Arbeitsschritte sollten gemäß *GLP (Gute Laborpraxis)* erfolgen.
- Während der Untersuchung der Proben entsprechende Schutzkleidung tragen (Laborkittel, Einweg-Handschuhe und Schutzbrille).
- Nicht Essen, Trinken oder Rauchen beim Umgang mit Proben und Testkits.
- Alle Proben sind als potenziell gesundheitsgefährdend anzusehen und müssen wie infektiöses Untersuchungsmaterial behandelt werden.
- Den Test in einem Behälter für biologisch gefährlichen Abfall entsorgen.
- Der Test sollte innerhalb von 2 Stunden nach der Öffnung des versiegelten Folienbeutels durchgeführt werden.

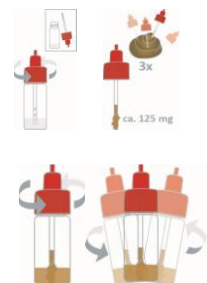
8. Probennahme, -vorbereitung und Lagerung

Sammeln Sie eine ausreichende Probenmenge (1-2 g oder 1-2 ml für flüssige Proben). Stuhlproben sollten in sauberen und trockenen Probensammelbehälter gesammelt werden (ohne Konservierungsstoffe oder Transportmedium). Die Proben können gekühlt bei 2-8°C für 24-48 Stunden vor der Testdurchführung aufbewahrt werden. Für eine längerfristige Lagerung sollten die Proben bei -20°C eingefroren werden. In diesem Fall sollten die Proben vor der Testdurchführung vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht werden.

9. Testdurchführung

Probenvorbereitung:

Verwenden Sie einen separaten Probensammelbehälter für jede Probe. Schrauben Sie die Kappe des Sammelröhrchens ab und sammeln Sie die Proben, indem Sie das Applikatorstäbchen in drei verschiedene Stellen des Stuhls stechen, um ungefähr 125 mg des Stuhls aufzunehmen.



Verschließen Sie das Sammelröhrchen, das Puffer und die Stuhlprobe enthält.

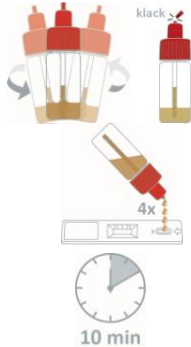
Schütteln Sie das Sammelröhrchen, um eine gute Probenverteilung zu gewährleisten.

Für flüssige Proben saugen Sie mit einer Pipette die Stuhlprobe an und geben Sie 125 µl Stuhlprobe ins Röhrchen, das Puffer enthält.

Testdurchführung:

Bringen Sie die Testkassetten, Stuhlproben und Puffer vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C). Öffnen Sie den Folienbeutel erst unmittelbar vor der Testdurchführung

1. Nehmen Sie die NADAL® C. difficile Toxins A&B Testkassette aus dem versiegelten Folienbeutel und verwenden Sie diese so schnell wie möglich.
2. Schütteln Sie das Sammelröhrchen, um eine gute Probenverteilung zu gewährleisten. Brechen Sie die Spitze des Probensammelröhrchens ab.
3. Verwenden Sie eine separate Testkassette für jede Probe. Geben Sie 4 Tropfen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie die Stoppuhr.
4. Lesen Sie das Ergebnis nach 10 Minuten ab.



10. Testauswertung

Positiv:

Toxin A positiv:

Neben der grün gefärbten Linie in der Kontrollregion (C) erscheint eine rot gefärbte Linie in der Testregion (T1).



Toxin B positiv:

Neben der grün gefärbten Linie in der Kontrollregion (C) erscheint eine rot gefärbte Linie in der Testregion (T2).



Toxin A/B positiv

Neben der grün gefärbten Linie in der Kontrollregion (C), erscheinen zwei rot gefärbte Linien in der Testregion (T1) und in der Testregion (T2).



Hierbei können die Linien in der Testregionen (T1 und T2) je nach Antigenkonzentration in der Probe unterschiedlich stark gefärbt sein.

Es kann jedoch weder ein quantitativer Wert noch ein Anstieg der Antigenkonzentration bei diesem qualitativen Test bestimmt werden.

Negativ:

Es erscheint nur die grün gefärbte Kontrolllinie C und keine der Testlinien T1, T2.



Ungültig:

Das Nichtvorhandensein einer Kontrolllinie weist auf ein Fehlschlagen des Testverfahrens hin. Die Untersuchung sollte mit einem neuen Test wiederholt werden.



Hinweis: Unzureichendes Probenvolumen oder inkorrekte Verfahrenstechniken sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrolllinie. Verfahrensablauf überprüfen und den Test mit einer neuen Testkassette durchführen. Falls das Problem weiterbesteht, die Charge ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit Ihrem Distributor in Verbindung setzen.

11. Qualitätskontrolle

Der Test beinhaltet eine Verfahrenskontrolle. Eine im Kontrollbereich (C) erscheinende grüne Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen und korrekte Testdurchführung.



12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® C. difficile Toxins A&B Test weist die Anwesenheit der Parasiten in Stuhlproben nach (qualitativer Nachweis) und sollte nur zum Nachweis von den Antigenen Toxin A und/oder Toxin B in Stuhlproben verwendet werden. Es kann weder ein quantitativer Wert noch ein Anstieg der Antigenkonzentration bei diesem qualitativen Test bestimmt werden.
- Ein Überschuss der Probe kann zu falschen Ergebnissen führen (braune Linien erscheinen). Verdünnen Sie die Probe mit dem Puffer und wiederholen Sie den Test.
- Einige Stuhlproben können die Intensität der Kontrolllinie verringern.
- Der Test sollte innerhalb von 2 Stunden nach der Öffnung des versiegelten Beutels durchgeführt werden.
- Sollte das Testergebnis negativ ausfallen, klinische Symptome aber weiterhin bestehen, sind weitere Tests mit anderen klinischen Methoden angeraten. Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit einer *Clostridium difficile*-Infektion aus.
- Der NADAL® C. difficile Toxins A&B Test ermöglicht eine vorläufige Diagnose der *Clostridium difficile*-Infektion.
- Alle Ergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen Informationen und dem gesamten klinischen Befund, der dem Arzt zur Verfügung steht, interpretiert werden.

13. Erwartete Werte

Clostridium difficile ist verantwortlich für 95-100% der Fälle von pseudomembranöser Kolitis, 60-75% der Fälle von antibiotikaassoziierter Kolitis und 35% der Fälle von antibiotikaassoziierter Diarrhö.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Sensitivität und Spezifität

Stuhlproben von Patienten mit Diarrhö wurden untersucht. Im Vergleich zu anderen kommerziellen Immunoassays zeigte der NADAL® C. difficile Toxins A&B Test:

Sensitivität >99%

Spezifität >99%

Kreuzreaktivität:

Es wurde eine Auswertung zur Bestimmung der Kreuzreaktivität des NADAL® C. difficile Toxins A&B Tests durchgeführt.

Es besteht keine Kreuzreaktivität mit üblichen gastro-intestinalen Mikroorganismen, die gelegentlich in Fäkalien vorkommen.

<i>Campylobacter spp.</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella spp.</i>
<i>E.Coli O157:H7</i>	<i>Shigella spp.</i>	<i>Yersinia spp.</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. 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. 2, 2014.10.24 OM

1. Intended Use

The NADAL® C. difficile Toxins A&B test is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of C. difficile Toxin A&B antigens in human stool specimens to aid in the diagnosis of C. difficile infection.

2. Introduction and Clinical Significances

Clostridium difficile is an anaerobic, gram-positive, spore-forming bacterium. The key feature that enables it to persist in patients and physical environments for long periods of time and facilitates its transmission is the ability of C. difficile to form spores. C. difficile is transmitted through the fecal-oral route.

Clostridium difficile is the principal pathogen related to antibiotic associated diarrhea and/or pseudomembranous colitis in hospitalized patients.

Mature colonic bacterial flora in a healthy adult is generally resistant to C. difficile colonization. However, if the normal colonic flora is altered, resistance to colonization is lost. Thus, any factor associated with alteration of the normal enteric flora increases the risk of C. difficile colonization after exposure to antibiotics, especially those with broad-spectrum activity such as penicillins, cephalosporins and clindamycin.

C. difficile can release two high-molecular-weight toxins, toxin A and toxin B. These are responsible for the clinical manifestations, which range from mild, self-limited watery diarrhea to fulminant pseudomembranous colitis, toxic megacolon, and death.

3. Principle of the Test

The NADAL® C. difficile Toxins A&B test is a qualitative immunoassay for the detection of C. difficile Toxin A and Toxin B antigens in human stool samples. The membrane is pre-coated with antibodies against Toxin A and antibodies against Toxin B antigens on the corresponding test line regions. During testing, the sample binds to the anti-Toxin A and anti-Toxin B antibodies on the conjugate pad. The mixture moves upward on the membrane by capillary action. In the case of a positive result the specific antibodies present in the test line regions will react with the mixture conjugates and generate one or two coloured test lines. A green coloured line (third line) should always develop in the control line region. It serves as an internal test control and as verification that sufficient volume of specimen has been added and proper membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® C. difficile Toxins A&B test cassettes
- 10 specimen collection vials with buffer
- Package insert

5. Additional Required Materials

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

6. Storage & Stability

Store as packaged in the sealed pouch either refrigerated or at room temperature (2-30°C). The test is stable through to the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

7. Warnings and Precautions

- For professional *in-vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- The test should remain in the sealed pouch until use.
- Do not use the test if the pouch is damaged.
- All operations linked to the use of the test must be performed in accordance with *Good Laboratory Practices (GLP)*.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are assayed.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens and kit reagents are handled.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed pouch.

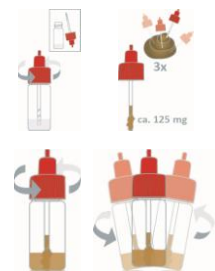
8. Specimen Collection and Preparation

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or 1-2 mL for liquid sample). Stool samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 24-48 hours prior to testing. For longer storage the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample should be completely thawed, and brought to room temperature before testing.

9. Procedure of the Test

Specimen preparation:

Use a separate specimen collection vial for each sample. Unscrew the cap of the vial and introduce the stick into three different spots of the fecal specimen to collect 125 mg of sample.



Close the vial containing the buffer and stool sample.

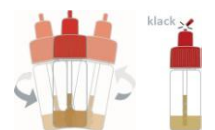
Shake the vial in order to ensure good sample dispersion.

For liquid stool samples, aspirate the fecal specimen with a dropper and add 125 µL into the specimen collection vial with buffer.

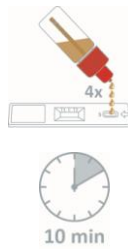
Test Procedure

Bring the test cassettes, stool samples and buffer to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Remove the NADAL® C. difficile Toxins A&B test cassette from its sealed pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collec-



- tion vial to ensure good sample dispersion. Break off the tip of the vial.
- Use a separate test cassette for each sample. Dispense 4 drops of the sample into the specimen well (S). Start the timer.
 - Read the result at 10 minutes after dispensing the sample.



10. Interpretation of the Results

Positive:

Toxin A positive:

In addition to the green line in the control region (C), a red-coloured line will develop in the test region (T1).



Toxin B positive:

In addition to the green line in the control region (C), a red-coloured line will develop in the test region (T2).



Toxin A/B positive:

In addition to the green line in the control region (C), two red-coloured lines develop in the test region (T1) and in test region (T2).



The intensity of the red coloured test lines (T1 and T2) will vary depending on the concentration of antigens in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase of antigens can be determined by this qualitative test.

Negative:

Only one green line develops in the control region C. No test lines develop.



Invalid:

No line develops in the control region (C). This indicates a possible error in the performance of the test. A new test should be performed.



Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or reagent deterioration are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your distributor.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test:

A green line developing in the control line region (C) confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.



12. Limitations

- The NADAL® C. difficile Toxins A&B test will only detect the presence of parasites in the stool specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of Toxins A

and/or B antigens in feces specimens only. Neither the quantity nor the rate of increase in antigen concentration can be determined by this test.

- An excess of sample may cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
- Some stool samples can decrease the intensity of the control bands.
- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed pouch.
- If the test result is negative and clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of *Clostridium difficile* infection.
- The NADAL® C. difficile Toxins A&B test provides a presumptive diagnosis of infection caused by *Clostridium difficile*. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.

13. Expected values

Clostridium difficile is associated with 95-100% of the cases of pseudomembranous colitis, 60-75% of the cases of antibiotic-associated colitis and 35% of the cases of antibiotic-associated diarrhea.

14. Performance Characteristics

Sensitivity and specificity

Stool samples from patients with diarrhea were studied. The NADAL® C. difficile Toxins A&B test in comparison with other commercial immunoassay tests showed:

Sensitivity >99%

Specificity >99%

Cross reactivity:

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of the NADAL® C. difficile Toxins A&B test. There is no cross reactivity with common gastrointestinal microorganisms occasionally present in feces.

<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella</i> spp.
<i>E. Coli</i> O157:H7	<i>Shigella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. References

- 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.
- Vaishnavi, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of *Clostridium difficile* associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499.
- Poutanen, S. M. et al. "*Clostridium difficile*-associated diarrhoea in adults", CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Rev. 2, 2014.10.24 JB

1. Domaine d'application

Le test NADAL® C. difficile Toxins A&B est un test rapide par immunochromatographie pour la détection qualitative des antigènes des toxines *C. difficile* A&B dans les selles humaines. Il permet une aide au diagnostic d'une infection par *Clostridium difficile*.

2. Introduction et signification clinique

Clostridium difficile est un bacille gram positif anaérobie et sporulé. La capacité de *C. difficile* à former des spores lui permet de persister chez les patients et dans l'environnement physique pendant de longues périodes et ainsi de faciliter sa transmission. *C. difficile* se transmet par contact féco-oral.

Clostridium difficile est l'agent pathogène principal lié à la diarrhée associée aux antibiotiques et/ou à la colite pseudomembraneuse chez les patients hospitalisés.

La flore bactérienne du côlon chez un adulte en bonne santé est généralement résistante à la colonisation par *C. difficile*. Toutefois, si la flore normale du côlon est altérée, l'organisme n'est plus résistant à la colonisation. Ainsi, tout facteur lié à une altération de la flore normale entérique augmente le risque de colonisation par *C. difficile* après une exposition aux antibiotiques, en particulier ceux tels que les pénicillines, les céphalosporines et la clindamycine.

C. difficile peut libérer deux toxines à haut poids moléculaire, la toxine A et la toxine B, responsables de manifestations cliniques allant de la diarrhée légère à une colite pseudomembraneuse fulminante, un mégacôlon toxique et la mort.

3. Principe du test

Le test NADAL® C. difficile Toxins A&B est un test immunologique qualitatif pour la détection des antigènes *C. difficile* toxine A et *C. difficile* toxine B dans les selles humaines. La membrane du test est recouverte d'anticorps dirigés contre les antigènes *C. difficile* toxine A et *C. difficile* toxine B au niveau de leur zone de test respective. Lors du test, l'échantillon réagit avec les conjugués colorés - anticorps anti-toxine A et anti-toxine B présents sur la membrane. Ils migrent ensemble le long de la membrane par capillarité, jusqu'à la zone de test.

En cas de résultat positif, les anticorps spécifiques présents sur la membrane vont réagir avec le conjugué et générer une ou deux lignes colorées rouges dans la zone de test. Une ligne colorée verte doit toujours apparaître dans la zone de contrôle. Elle permet un contrôle interne des réactifs en vérifiant qu'un volume d'échantillon suffisant a été ajouté et que la migration s'est correctement déroulée le long de la membrane.

4. Réactifs et matériel fourni

- 10 Cassettes NADAL® C. difficile Toxins A&B
- 10 Tubes collecteurs avec solution d'extraction
- 1 Mode d'emploi

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre
- Gants jetables
- Récipient de recueil pour l'échantillon

6. Péréemption et conservation des réactifs

Conservier le kit dans son emballage à température ambiante ou en milieu réfrigéré (2-30°C). Le test reste stable jusqu'à la date de péréemption indiquée sur l'emballage. Conservier le test dans son sachet individuel jusqu'à utilisation. Ne pas congeler.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Le test doit rester dans le sachet scellé jusqu'à utilisation.
- Ne pas utiliser le test si le sachet est endommagé.
- Suivre les bonnes pratiques de laboratoire.
- Porter des vêtements de protection tels que blouse de laboratoire, lunettes et des gants jetables.
- Ne pas manger, ni boire, ni fumer dans la zone de manipulation des tests.
- Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et manipulés avec les memes précaution qu'un agent infectieux.
- Le test doit être jeté dans un conteneur adapté après la manipulation.
- Le test doit être effectué dans les 2 heures suivant l'ouverture de son sachet individuel.

8. Recueil et conservation des échantillons

Recueillir une quantité suffisante de matières fécales (1-2g ou 1-2 ml en cas d'échantillons liquides). L'échantillon de selles doit être recueilli dans un récipient propre et sec (sans conservateurs ou milieux de transport). L'échantillon peut être conservé en milieu réfrigéré (2-8°C) pendant 24-48 heures avant le test. Pour une conservation plus longue, l'échantillon doit être congelé à -20°C. Dans ce cas, l'échantillon doit être totalement décongelé et ramené à température ambiante avant le test.

9. Exécution du test

Prélèvement de l'échantillon de selles

Utiliser un tube collecteur différent pour chaque échantillon. Dévisser le bouchon et planter le pic collecteur à 3 endroits différents dans les selles afin de recueillir une petite quantité de matière fécale (environ 125 mg).

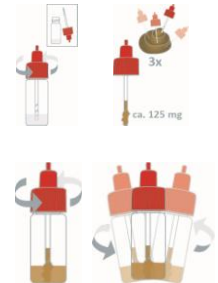
Refermer le tube collecteur contenant l'échantillon et la solution d'extraction.

Mélanger et homogénéiser afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon.

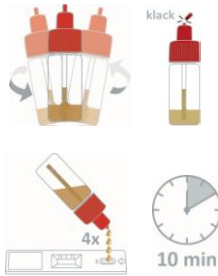
Pour les échantillons liquides, pipeter environ 125 µl d'échantillon à l'aide d'une pipette et l'ajouter dans le tube collecteur.

Procédure

Amener le test, l'échantillon de selles et le tube collecteur avec la solution d'extraction à température ambiante (15-30°C) avant le test. Ne pas sortir le test de son emballage individuel avant d'être prêt à effectuer le test.



1. Retirez le test NADAL® C. difficile Toxins A&B de son sachet individuel et l'utiliser dès que possible.
2. Agiter le tube collecteur pour assurer la bonne dispersion de l'échantillon. Casser l'embout du tube.
3. Utilisez un test différent pour chaque échantillon. Déposer 4 gouttes d'échantillon dans le puits de dépôt (S). Lancer le chronomètre.
4. Interpréter le résultat après 10 minutes.



11. Contrôle qualité

Le test possède une procédure de contrôle interne. Une ligne verte apparaît dans la zone de contrôle (C), cela confirme que le volume d'échantillon est suffisant et que la manipulation a été suivie correctement.



12. Limites du test

- Le test NADAL® C. difficile Toxins A&B indique uniquement la présence de parasites dans l'échantillon de selles (détection qualitative). Il doit être uniquement utilisé pour la détection des antigènes de toxines A et B dans des échantillons de matières fécales. Ni la valeur quantitative, ni le taux d'augmentation de la concentration en antigène ne peuvent être déterminés par ce test.
- Un excès d'échantillon peut entraîner un résultat erroné (apparition de bandes brunes). Diluer l'échantillon avec la solution et recommencer le test.
- Certains échantillons de selles peuvent diminuer l'intensité de la ligne de contrôle.
- Le test doit être effectué dans les 2 heures suivant l'ouverture du sachet scellé.
- Si les symptômes cliniques persistent malgré un résultat négatif, il est recommandé d'effectuer des analyses complémentaires par d'autres méthodes cliniques. Un résultat négatif ne peut exclure catégoriquement une infection par *Clostridium difficile*.
- Le test NADAL® C. difficile Toxins A&B permet un diagnostic présomptif d'infection à *Clostridium difficile*. L'infection doit être confirmée par un médecin après prise en compte de l'ensemble des données cliniques et de laboratoire.

10. Interprétation des résultats

Positif:

Toxine A positive:

En plus de la ligne verte apparue dans la zone de contrôle (C), une ligne colorée rouge apparaît dans la zone de test (T1).



Toxine B positive:

En plus de la ligne verte apparue dans la zone de contrôle (C), une ligne colorée rouge apparaît dans la zone de test (T2).



Toxines A et B positives:

En plus de la ligne verte apparue dans la zone de contrôle (C), deux lignes colorées rouges apparaissent dans les zones de test (T1) et (T2).



L'intensité des lignes de couleur rouge dans les zones de test (T1) et (T2) peut varier en fonction de la concentration en antigène de l'échantillon. Cependant, ni la valeur quantitative, ni le taux d'augmentation de l'antigène ne peuvent être déterminés par ce test qualitatif.

Négatif:

Seule une ligne verte apparaît dans la zone de contrôle identifiée par la lettre (C). Aucune ligne de test n'apparaît.



Non valide:

Absence totale de la ligne de contrôle verte (C) indépendamment de l'apparition ou non de la ligne de test rouge (T). Cela indique que le test n'as pas fonctionné. Refaire un nouveau test.



Remarque:

Un volume d'échantillon insuffisant, une erreur de manipulation ou une détérioration des réactifs sont les raisons les plus probables d'absence de ligne de contrôle. Revoir la procédure et refaire le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit et contactez votre distributeur.

13. Valeurs attendues

Clostridium difficile est associé à 95-100% des cas de colites pseudomembraneuses, à 60-75% des cas de colites des antibiotiques et à 35% des cas de diarrhées post-antibiotiques.

14. Performances du test

Sensibilité et spécificité:

Des échantillons de selles provenant de patients souffrant de diarrhée ont été étudiés. Les résultats obtenus avec le test NADAL® C. difficile Toxins A&B ont été comparé à un autre test immunologique du marché:

Sensibilité >99%

Spécificité >99%

Réactivité croisée:

Une évaluation a été effectuée pour déterminer la réactivité croisée du test NADAL® C. difficile Toxins A&B. Il n'y a pas de réactivité croisée avec les micro-organismes gastro-intestinaux communs suivants, parfois présents dans les matières fécales.

<i>Campylobacter spp.</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella spp.</i>
<i>E.Coli O157:H7</i>	<i>Shigella spp.</i>	<i>Yersinia spp.</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. Bibliographie

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.2, 2014.10.24 AS

1. Uso previsto

El test NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B es una prueba de diagnóstico rápido inmunocromatográfico para la detección cualitativa del antígeno de la toxina A y la toxina B del *Clostridium difficile* en heces humanas para ayudar en el diagnóstico de una infección por *Clostridium difficile*.

2. Introducción y significado clínico

Clostridium difficile (*C. difficile*) es una bacteria anaeróbica, Gram positiva y formadora de esporas. Estas características son las que le permiten persistir en pacientes y entornos físicos durante largos períodos de tiempo facilitando, así, su transmisión por la capacidad de *C. difficile* para formar esporas. Esta bacteria se transmite por la vía fecal-oral.

Clostridium difficile es el principal patógeno relacionado con la diarrea asociada a los antibióticos y/o colitis pseudomembranosa en pacientes hospitalizados.

La flora bacteriana de un colon adulto sano es generalmente resistente a la colonización de *C. difficile*. Sin embargo, si la flora colónica normal se ve alterada, se pierde la resistencia a la colonización. Por lo tanto, cualquier factor asociado con la alteración de la flora entérica normal, aumenta el riesgo de colonización de *C. difficile*. Por ejemplo, después de la exposición a los antibióticos, especialmente aquellos con actividad de amplio espectro tales como penicilinas, cefalosporinas y clindamicina. Tras esta colonización, *C. difficile* puede liberar dos toxinas de alto peso molecular, la toxina A y la toxina B, siendo ambas las responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, que puede ser desde una diarrea acuosa auto limitante no grave, una colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico hasta llegar a causar la muerte.

3. Principio del test

El test NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B es un inmunoensayo cualitativo para la detección de antígenos de Toxina A y Toxina B de *Clostridium difficile* en muestras de heces humanas. En la zona de las líneas del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a Toxina A y frente a Toxina B. Durante el proceso, la muestra reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-Toxina A y anti-Toxina B, formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de que se de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una o dos líneas coloreadas. Siempre debe aparecer una línea verde en el área de control (C), ya que sirve como indicador de que el volumen de muestra añadido es suficiente, que el flujo de la muestra ha sido el adecuado y que la reacción producida en la membrana ha sido la correcta.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 test NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B en formato cassette.
- 10 viales de recogida de muestra con búfer.
- 1 instrucciones de uso.

5. Otros materiales necesarios

- Envase para la recogida de muestra.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.

6. Almacenamiento y conservación

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C). El test se conservará intacto hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No conviene congelar.

7. Advertencias y precauciones

- Solo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- El dispositivo de prueba debe permanecer sellado dentro de su envoltorio hasta el momento de su uso.
- No utilice el test si el envoltorio del mismo se encuentra dañado.
- Realice el análisis de acuerdo con las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)*.
- Use ropa protectora tal como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analizan muestras.
- No coma, beba o fume en el área de manipulación de las muestras y los reactivos.
- Todas las muestras deben considerarse potencialmente infecciosas y deben manipularse como si se trataran de agentes infecciosos.
- Deseche los dispositivos usados en un contenedor de riesgo biológico adecuado.
- Realice el test durante las dos horas posteriores a la apertura de su envoltorio.

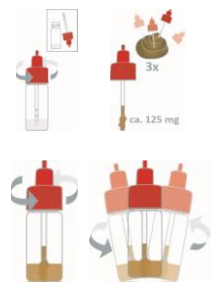
8. Toma de muestras y preparación

Tomar una cantidad de muestra de heces suficiente (1-2 g o mL para muestras líquidas). Almacene las muestras en un envase limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Estas pueden conservarse refrigeradas (2-8°C) durante un máximo de 24 horas. Para una conservación más larga deberán congelarse a -20°C. En este caso debe descongelar la muestra y llevarla a temperatura ambiente antes de realizar el test.

9. Procedimiento del test

Para procesar las muestras de heces:

Utilice un vial para muestra de diluyente diferente para cada muestra. Desenrosque la parte de arriba del vial e introduzca el stick tres veces en la muestra de heces para tomar una cantidad suficiente de muestra (aprox. 125 mg). Cierre el vial con el tapón y la muestra. Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas utilice una pipeta y añada 125 µL en el vial para muestra con diluyente.

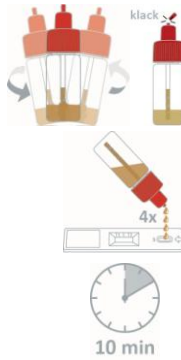


Procedimiento:

Antes de realizar la prueba, los test, muestras y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C). No abra el envase hasta el momento en que vaya a realizar el ensayo.

1. Saque el casete NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B de su envase sellado y úselo tan pronto como sea posible.

- Agite el vial con la muestra para asegurarse de una buena dispersión. Rompa la parte de arriba del vial.
- Use un test diferente para cada muestra. Dispense exactamente 4 gotas en el pocillo de muestra (S). Ponga en marcha el cronómetro.
- Lea el resultado a los 10 minutos tras dispensar la muestra.



La línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen añadido de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.



12. Limitaciones

- El NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B indicará únicamente la presencia de Clostridium difficile en la muestra de heces (detección cualitativa) y solamente debería usarse para la detección de antígenos de Toxina A y/o Toxina B en muestras de heces. No puede detectar ni la cantidad ni el aumento de concentración de antígenos.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.
- El test debe ser utilizado antes de las dos horas siguientes a su apertura.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que el contenido de Toxinas A y/o B en la muestra de heces sea muy bajo, por lo que se debería repetir la prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento.
- Esta prueba proporciona un presunto diagnóstico de infección por NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B, que debe confirmar un especialista o médico cualificado tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio, teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.

10. Interpretación de resultados

POSITIVO:

TOXINA A positivo:

Aparecen dos líneas en la zona central de la ventana, una roja de resultado junto a T1 y una verde de control junto a la letra C.

TOXINA B positivo:

Aparecen dos líneas en la zona central de la ventana, una roja de resultado junto a T2 y otra verde de control junto a la letra C.

TOXINA A/B positivo:

Aparecen tres líneas en la zona central de la ventana, dos rojas junto a T1 y T2, y una verde de control junto a la letra C.



La intensidad del color rojo de las líneas de test (T1 y T2) variará dependiendo de la concentración de antígenos en la muestra. Sin embargo, con esta prueba cualitativa no se puede determinar un valor cuantitativo ni la tasa de aumento de antígenos.

Negativo:

Solo aparece una línea de color verde en la zona de control junto a la letra C (llamada línea de control).



No válido:

No aparece la línea de control de color verde, a pesar de que aparezca o no la línea roja en la zona de resultados.



Nota: un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o un deterioro de los reactivos podrían ser la causa de la no aparición de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests y contacte con su distribuidor.

11. Control de calidad

Existe un control interno del procedimiento incluido en el test:

13. Valores esperados

Clostridium difficile está asociado con el 95-100% de los casos de colitis pseudomembranosa, con el 60-75% de los casos de colitis asociada a uso de antibióticos y con el 35% de los casos de diarrea asociada al uso de antibióticos.

14. Características del test

Sensibilidad y especificidad

Se estudiaron algunas muestras de heces provenientes de pacientes con diarrea. Los resultados utilizando el test NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B en comparación con otro test inmunocromatográfico fueron:

Sensibilidad >99%

Especificidad >99%

Reacciones cruzadas e interferencias:

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas y las interferencias del test NADAL® Clostridium difficile Toxinas A y B. No existen reacciones cruzadas con ninguno de los posibles microorganismos ocasionalmente presentes en las heces.

<i>Campylobacter spp.</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella spp.</i>
<i>E.Coli O157:H7</i>	<i>Shigella spp.</i>	<i>Yersinia spp.</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphilococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. 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. 2, 2014.10.24 IA

1. Scopo del test

Il test NADAL® Clostridium difficile tossine A&B è un dosaggio immunocromatografico per la rilevazione qualitativa degli antigeni delle tossine A&B *Clostridium difficile* in campioni di feci umane utile alla diagnosi di infezioni da *C. difficile*.

2. Introduzione e significato clinico

Il *Clostridium difficile* è un batterio anaerobico, gram-positivo, produttore di spore. Il motivo principale che consente al batterio di sopravvivere nei pazienti e in ambienti fisici per lunghi periodi di tempo permettendone la trasmissione, è la capacità del *C. difficile* di formare spore. Il *C. difficile* si trasmette per via fecale od orale ed è il principale patogeno legato ad episodi di diarrea da antibiotici e/o coliti pseudomembranose in pazienti ricoverati.

Una flora batterica del colon matura, in un individuo adulto sano, è generalmente resistente alla colonizzazione del *C. difficile*. In ogni caso, se la normale flora colonica è alterata, tale resistenza alla colonizzazione è persa. Perciò, ogni fattore associato alla alterazione della normale flora enterica aumenta il rischio di colonizzazione di *C. difficile* dopo l'esposizione ad antibiotici soprattutto quelli ad ampio spettro quali penicilline, cefalosporine e clindamicine.

Il *C. difficile* è in grado di rilasciare due tossine ad alto peso molecolare, tossina A e tossina B. Esse sono responsabili per le manifestazioni cliniche di diarree da medio, semi liquide a coliti pseudomembranose fulminanti, megacolon tossico e morte.

3. Principio del test

Il test NADAL® Clostridium difficile tossine A&B è un immunodosaggio qualitativo per la rilevazione degli antigeni delle tossine A e B del *C. difficile* in campioni di feci umane. La membrana è pre-rivestita con anticorpi contro gli antigeni della tossina A e tossina B nelle corrispondenti aree della linea del test. Durante il test i campioni si legano agli anticorpi anti-tossina A e anti-tossina B sulla membrana coniugata. Il complesso si muove lungo la membrana per azione capillare. In caso di risultato positivo, gli anticorpi specifici presenti nella zona della linea del test reagiscono con il composto coniugato generando una o due linee colorate del test. Una linea verde (terza linea) dovrebbe sempre comparire nell'area C di controllo. Questa, funziona come controllo interno del test ed indica che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e materiali forniti

- 10 Test a cassetta NADAL® C. difficile tossine A&B
- 10 fiale con tampone per la raccolta del campione
- Istruzioni per l'uso

5. Ulteriori materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione
- Guanti monouso
- Timer

6. Conservazione e stabilità

Conservare nella sua confezione, in frigorifero o a temperatura ambiente (2-30°C). Il test rimane stabile fino alla data di

scadenza riportata sulla confezione. Conservare nella sua confezione fino all'utilizzo. Non congelare.

7. Avvertenze e precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Il test va conservato nella sua confezione fino al suo utilizzo.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Tutte le procedure legate all'utilizzo del test devono essere eseguite nel rispetto delle norme suggerite dalla *Buona Pratica di Laboratorio (GLP)*.
- Indossare abiti protettivi quali, camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi durante l'utilizzo del test.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i reagenti.
- Tutti i campioni dovrebbero essere considerati come potenzialmente inquinanti e trattati come agenti infettivi.
- Gettare il test in un apposito contenitore per la raccolta di materiali biologici dopo l'utilizzo.
- Il test va eseguito entro 2 ore dall'apertura della confezione.

8. Preparazione e raccolta del campione

Raccogliere una quantità sufficiente di feci (1-2 g o 1-2 mL per il campione liquido). I campioni di feci vanno raccolti in contenitori puliti ed asciutti (senza conservanti). I campioni possono essere conservati in frigorifero (2-8°C) per 24-48 ore prima dell'esecuzione del test. Per conservazioni prolungate si consiglia di congelare i campioni a -20°C. In tal caso il campione va completamente scongelato e portato a temperatura ambiente prima dell'utilizzo.

9. Procedura del test

Preparazione del campione:

Utilizzare fiale differenti per la raccolta di ogni campione. Svitare il tappo della fiala ed introdurre il bastoncino in tre differenti punti del campione di feci raccolto al fine di prelevare 125 mg di campione.

Chiudere la fiala contenente la soluzione di diluizione ed il campione di feci.

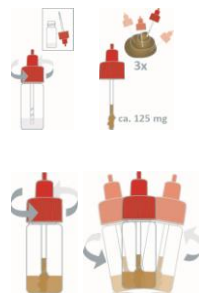
Agitare la fiala al fine di mescolare in maniera appropriata il campione.

Per campioni liquidi, aspirare il campione di feci con un contagocce ed aggiungerne 125 µL nella fiala di raccolta contenente la soluzione di diluizione.

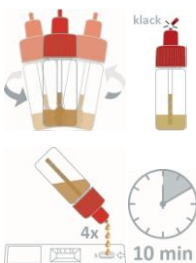
Procedura del test

Portare i test a cassetta, i campioni ed i reagenti a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test. Non aprire la confezione fin quando non si è pronti ad eseguire il test.

1. Estrarre il test a cassetta NADAL® C. difficile tossine A&B dalla confezione ed eseguirlo nel più breve tempo possibile.



2. Agitare la fila di raccolta del campione al fine di mescolare in maniera appropriata il campione. Rompere l'estremità inferiore della fiala.
3. Utilizzare un test a cassetta diverso per ogni campione. Versare 4 gocce di campione nel pozzetto di raccolta del campione (S). Avviare il timer.
4. Leggere i risultati dopo 10 minuti.



12. Limiti del Test

- Il test NADAL® C. difficile tossine A&B rileva esclusivamente la presenza di parassiti nel campione di feci (rilevazione qualitativa). Dovrebbe, pertanto, essere utilizzato esclusivamente per la rilevazione delle tossine A e/o B in campioni di feci. Nè la quantità nè il grado di aumento della concentrazione di antigeni possono essere rilevate con questo test.
- Un eccesso di campione potrebbe causare risultati errati (compaiono linee marroni). In tal caso diluire il campione con la soluzione di diluizione e ripetere il test.
- Alcuni campioni potrebbero incidere sull'intensità di colore della linea di controllo.
- Il test va eseguito entro 2 ore dall'apertura della confezione.
- Se il risultato del test è negativo ed i sintomi clinici persistono, si raccomanda di utilizzare altri metodi clinici di indagine. Un risultato negativo non preclude la possibilità di infezione da *Clostridium difficile*.
- Il test NADAL® C. difficile tossine A&B fornisce la diagnosi di una possibile infezione causata da *Clostridium difficile*. Tutti i risultati vanno interpretati insieme ad altre informazioni cliniche ed indagini di laboratorio eseguite dal medico.

13. Risultati attesi

Infezioni da *Clostridium difficile* sono associate nel 95-100% dei casi a coliti pseudomembranose, nel 60-75% a coliti da trattamenti antibiotici e nel 35% dei casi ad episodi di diarrea da antibiotici.

14. Caratteristiche Tecniche

Sensibilità e specificità

Sono stati analizzati campioni di feci prelevati da soggetti con diarrea. Il test NADAL® C. difficile tossine A&B comparato con altri test immunologici reperibili in commercio, mostra:

Sensibilità: >99%

Specificità: >99%

Reattività incrociata:

È stata condotta una valutazione per determinare i livelli di reattività incrociata del test NADAL® C. difficile tossine A&B, ed è stato stabilito che non si verificano reazioni incrociate con comuni microrganismi gastrointestinali presenti nelle feci.

<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella</i> spp.
<i>E.Coli</i> O157:H7	<i>Shigella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. 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.2, 2014.10.24 BN

10. Interpretazione dei risultati

Positivo:

Positivo alla tossina A:

Insieme alla linea verde di controllo, visibile nella regione di controllo (C), comparirà anche una linea rossa nell'area del test (T1).



Positivo alla tossina B:

Insieme alla linea verde di controllo, visibile nella zona di controllo (C), comparirà anche una linea rossa nell'area del test (T2).



Positivo alle tossine A/B:

Insieme alla linea verde di controllo, visibile nella zona di controllo (C), compariranno anche due linee rosse nell'area del test (T1) e nell'area del test (T2).



L'intensità di colore delle linee (T1 e T2) varierà a seconda della concentrazione di antigeni nel campione. In ogni caso, nè il valore quantitativo, nè il grado di aumento di antigeni possono essere determinati con questo test qualitativo.

Negativo:

Compare solo una linea verde nella zona di controllo C. Non si sviluppa nessuna linea del test.



Non valido:

Non compare alcuna linea nella zona di controllo (C). Ciò indica un possibile errore nell'esecuzione del test. Si consiglia di eseguire un nuovo test.



Nota bene: Un volume insufficiente di campione, tecniche procedurali scorrette o usura dei reagenti, sono le ragioni più comuni per la mancata riuscita del test. Si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test con un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, interrompere l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.

11. Controllo qualità

Un controllo procedurale interno è incluso nel test:

La comparsa di una linea verde nella zona di controllo (C) conferma l'utilizzo di un volume di campione sufficiente ed una tecnica procedurale corretta.



1. Zastosowanie

Test NADAL® C. difficile Toxins A&B jest szybkim testem immunochromatograficznym do jakościowego wykrywania antygenu C. difficile toksyn A i B w próbkach ludzkiego kału. Służy jako środek pomocniczy w diagnozie infekcji C. difficile.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Clostridium difficile jest beztlenową, gram-dodatnią, przetrwalnikującą bakterią. Czynnikiem kluczowym, który umożliwia przetrwanie u pacjentów i w środowisku fizycznym, a przy tym ułatwia swoje przenoszenie, jest zdolność C. difficile do formowania przetrwalników. Przenoszenie C. difficile następuje drogą fekalno-oralną.

Clostridium difficile jest głównym zarazkiem chorobotwórczym biegunki wywołanej antybiotykami i/lub pseudomembranowego zapalenia jelita grubego u hospitalizowanych pacjentów. Dojrzała flora bakteryjna u dorosłego człowieka jest ogólnie odporna na kolonizację C. difficile. Jeżeli jednak normalna flora jelita grubego ulega zmianie, znika odporność przeciwko kolonizacji C. difficile. Z tego powodu każdy czynnik, który jest powiązany ze zmianą normalnej flory jelita, zwiększa ryzyko kolonizacji C. difficile po zażyciu antybiotyków, szczególnie tych o szerokim zakresie działania, jak penicylina, cefalosporyna i klindamycyna.

C. difficile może uwalniać dwie wysokomolekularne toksyny, toksynę A i toksynę B, które są odpowiedzialne za kliniczne objawy o szerokim zakresie, od łagodnych, samoistnie kończących się wodnistych biegunek do nagłych, pseudomembranowych zapaleń jelita grubego, ostrego rozdzęcia okrężnicy oraz śmierci.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® C. difficile Toxins A&B jest jakościowym testem immunologicznym do wykrywania toksyny A i toksyny B C. difficile w próbkach ludzkiego kału. Membrana testu jest pokryta przeciwciałami przeciwko antygenom toksyny A i toksyny B w odpowiednich miejscach w obszarze linii testowej. Podczas testowania antygeny z próbki łączą się z przeciwciałami przeciwko toksynie A i przeciwko toksynie B na polu z koniugatem. Mieszanka przemieszcza się na membranę za pomocą sił kapilarnych. W przypadku wyniku pozytywnego przeciwciała umieszczone w obszarze linii testowych reagują z mieszaną koniugatu i pojawiają się jedna lub dwie czerwone linie. Zielona linia (trzecia linia) powinna pojawić się zawsze w obszarze linii kontrolnej. Służy ona jako wewnętrzna kontrola testu oraz jako potwierdzenie, że dodano wystarczającą ilość próbki i nastąpił prawidłowy przepływ próbki przez membranę.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® C. difficile Toxins A&B
- 10 probówek ekstrakcyjnych
- Instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemnik do pobrania próbki kału
- Jednorazowe rękawiczki
- Stoper

6. Ważność i przechowywanie odczynników

Testy należy przechowywać w oryginalnym opakowaniu w zamkniętej torebce w temperaturze pokojowej lub schłodzone (2-30°C). Test jest przydatny do użytku do daty ważności nadrukowanej na zamkniętym opakowaniu. Kasetka testowa powinna do momentu użycia pozostać w zamkniętym opakowaniu. Nie zamrażać.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do diagnostyki *in-vitro* i wykwalifikowanego personelu.
- Nie używać testu po upływie daty ważności.
- Kasetę testową wyjąć z foliowego opakowania dopiero bezpośrednio przed przeprowadzeniem testu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie jest uszkodzone.
- Wszystkie etapy przeprowadzania testu powinny przebiegać zgodnie z *GLP (Dobra Praktyka Laboratoryjna)*.
- Podczas badania próbki należy nosić odpowiednie ubranie ochronne (kitel laboratoryjny, jednorazowe rękawiczki i okulary ochronne).
- Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas pracy z próbkami i testami.
- Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie zagrażające życiu i należy obchodzić się z nimi jak z materiałem potencjalnie zakaźnym.
- Test należy wyrzucić do pojemnika na odpady biologicznie niebezpieczne.
- Test powinien zostać przeprowadzony w ciągu 2 godzin po otwarciu zamkniętego opakowania foliowego.

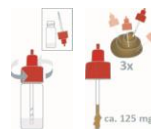
8. Pobranie, przygotowanie i przechowywanie próbki

Pobrać wystarczającą ilość próbki (1-2 g lub 1-2 ml płynnej próbki). Próbkę kału powinny być pobierane do czystych i suchych pojemników na próbkę (bez środków konserwujących i środków do transportu). Próbki mogą być przechowywane przed testowaniem schłodzone do temperatury 2-8°C przez 24-48 godzin. W celu dłuższego przechowywania, próbki powinny zostać zamrożone do temperatury -20°C. W tym przypadku, przed przeprowadzeniem testu, próbki powinny zostać całkowicie rozmrożone i doprowadzone do temperatury pokojowej.

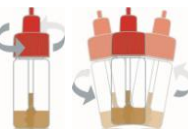
9. Przeprowadzanie testu

Przygotowanie próbki:

Do każdej próbki należy używać osobnej probówki na próbkę. Odkręcić nakrętkę probówki i pobrać próbkę poprzez nakłucie próbki kału w przynajmniej trzech różnych miejscach, aby pobrać ok. 125 mg kału.



Zamknąć probówkę zawierającą bufor i próbkę kału. Wstrząsnąć probówką, aby dokładnie wymieszać próbkę.

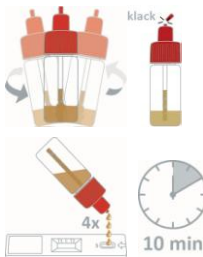


W przypadku płynnych próbek kału, próbkę pobrać pipetą i dodać 125 µl do probówki zawierającej bufor.

Przeprowadzanie testu:

Przed przeprowadzeniem testu doprowadzić kasyety testowe, próbki kału i bufor do temperatury (15-30°C). Foliowe opakowanie otworzyć dopiero bezpośrednio przed przeprowadzeniem testu.

1. Wyjąć test kasetowy NADAL® C. difficile Toxins A&B z zamkniętego foliowego opakowania i użyć go tak szybko jak to możliwe.
2. Wstrząsnąć próbkówką, aby dokładnie wymieszać próbkę. Odtłamać końcówkę próbkówki.
3. Dla każdej próbki należy używać osobnej kasyety testowej. Nanieść 4 krople do okienka na próbkę (S) na kasecie testowej. Włączyć stoper.
4. Odczytać wynik po 10 minutach.

**10. Interpretacja wyników****Pozytywny:****Pozytywny dla toksyny A:**

Obok zielono zabarwionej linii w obszarze kontrolnym (C), pojawia się czerwono zabarwiona linia w obszarze testowym (T1).

Pozytywny dla toksyny B:

Obok zielono zabarwionej linii w obszarze kontrolnym (C), pojawia się czerwono zabarwiona linia w obszarze testowym (T2).

Pozytywny dla toksyny A i B:

Obok zielono zabarwionej linii w obszarze kontrolnym (C), pojawiają się dwie czerwono zabarwione linie w obszarze testowym (T1) i w obszarze testowym (T2).

Linie w obszarach testowych (T1 i T2) mogą być zabarwione z różną intensywnością w zależności od koncentracji antygenów w próbce.

Przy użyciu tego testu jakościowego nie można określić ani ilościowej zawartości antygenów ani wzrostu koncentracji antygenów.

Negatywny:

Pojawia się tylko zielono zabarwiona linia kontrolna C i nie pojawiają się linie testowe T1, T2.

Nieważny:

Niepojawienie się linii kontrolnej wskazuje na nieprawidłowe przeprowadzenie testu. Należy przeprowadzić badanie ponownie przy użyciu nowego testu.

Wskazówka: Niewystarczające ilości próbki lub nieprawidłowe przeprowadzenie testu są najczęstszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. W takim przypadku należy sprawdzić procedurę testu i przeprowadzić badanie przy użyciu nowego testu. Jeżeli problem się powtarza, nie używać więcej testów z tej serii i skontaktować się z dystrybutorem.

**11. Kontrola jakości**

Test zawiera kontrolę badania. Pojawiająca się zielono zabarwiona linia w obszarze kontrolnym (C) służy jako wewnętrzna kontrola badania. Potwierdza wystarczającą ilość próbki i prawidłowe przeprowadzenie testu.

**12. Ograniczenia testu**

- Test NADAL® C. difficile Toxins A&B wskazuje obecność pasożytów w próbkach kału (wykrywanie jakościowe) i powinien być wykorzystywany tylko do wykrywania antygenów toksyny A i/lub toksyny B w próbkach kału. Przy użyciu tego testu jakościowego nie można określić ani ilościowej zawartości antygenów ani wzrostu koncentracji antygenów.
- Nadmiar próbki może prowadzić do fałszywych wyników (pojawienie się brązowych linii). W takim przypadku należy rozcieńczyć próbkę buforem i powtórzyć badanie.
- Niektóre próbki kału mogą zmniejszyć słabość zabarwienia linii kontrolnej.
- Test powinien zostać przeprowadzony w ciągu 2 godzin po otwarciu zamkniętej kasyety testowej.
- Jeżeli pomimo wyniku negatywnego, kliniczne symptomy dalej się utrzymują, należy przeprowadzić kolejne badanie przy użyciu innych metod klinicznych. Wynik negatywny nie wyklucza możliwości infekcji *Clostridium difficile*.
- Test NADAL® C. difficile Toxins A&B umożliwia tymczasową diagnozę infekcji *Clostridium difficile*.
- Wszystkie wyniki powinny być interpretowane łącznie z innymi informacjami klinicznymi i ogólnym orzeczeniem klinicznym, które są dostępne lekarzowi.

13. Oczekiwane wartości

Clostridium difficile jest odpowiedzialna za 95-100% przypadków pseudomembranowego zapalenia jelita grubego, 60-75% przypadków zapalenia jelita grubego wywołanego antybiotykami i 35% przypadków biegunki wywołanej antybiotykami.

14. Charakterystyka testu**Czułość i swoistość**

Badaniu poddano próbki kału od pacjentów z biegunką. W porównaniu z innymi komercyjnymi badaniami immunologicznymi, test NADAL® C. difficile Toxins A&B wykazał następujące wyniki:

Czułość >99%

Swoistość >99%

Reakcje krzyżowe:

Nie przeprowadzono określenia reakcji krzyżowych testu NADAL® C. difficile Toxins A&B.











Nie istnieją reakcje krzyżowe ze zwyczajowymi mikroorganizmami przewodu pokarmowego, które czasami występują w kale.

<i>Campylobacter</i> spp.	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella</i> spp.
<i>E.Coli</i> O157:H7	<i>Shigella</i> spp.	<i>Yersinia</i> spp.
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

15. 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". 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.2.2014.10.24 MW

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	Consulte 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	Limitación 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 pour "n" tests	Válido para para <n> ensayos	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

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

Netherlands:

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

Denmark:

Tel: +31 703075 603
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