

NADAL® C. difficile GDH Ag Test (test cassette)

REF 582004



DE	Gebrauchsanweisung	2	PL	Sposób użycia	17
EN	Instructions for use	5		Symbols	20
FR	Instrucciones de uso	8		Our Teams	20
ES	Instrucciones de uso	11			
IT	Istruzioni per l'uso	14			



1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® C. difficile GDH Ag Test ist ein schneller, chromatographischer Immunoassay für den qualitativen Nachweis von *Clostridium difficile* Glutamatdehydrogenase-Antigenen (C. difficile GDH-Antigenen) 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 grampositives, 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 kann zwei Toxine mit hochmolekularem Gewicht ausscheiden: Toxine A und B, welche für die klinischen Manifestationen verantwortlich sind, die vom leichten, selbstlimitierenden wässrigen Durchfall bis zur fulminanten pseudomembranösen Kolitis, sowie 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 GDH Ag Test ist ein qualitativer Immunoassay im Lateral-Flow-Format zum Nachweis von C. difficile GDH-Antigenen in humanen Stuhlproben. Monoklonale Antikörper gegen C. difficile GDH-Antigene sind im Testlinienbereich der Membran vorbeschichtet. Während der Testung reagiert die Probe mit den anti-C. difficile GDH-Antikörpern, die auf farbigen Partikeln vorbeschichtet und auf dem internen Teststreifen vorgetrocknet sind. Das Gemisch wandert dann mittels Kapillarkraft die Membran entlang. Bei einem positiven Ergebnis reagieren die auf der Membran vorhandenen, spezifischen Antikörper mit der Konjugat-Mischung und rufen eine farbige Linie hervor.

Es sollte immer eine grüne Linie im Kontrolllinienbereich erscheinen, welche als Verfahrenskontrolle dient und darauf hinweist, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 NADAL® C. difficile GDH Ag Testkassetten

- 10 Probennahmeröhrchen mit Puffer
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Probensammelbehälter
- Einweghandschuhe
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Lagern Sie den Test im verschlossenen Folienbeutel bei 2-30°C. Der Test ist stabil bis zum auf dem Folienbeutel angegebenen Haltbarkeitsdatum. Die Testkassette sollte bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie die Tests 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 Probennahmeröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- 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).
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Probennahme und -lagerung

Eine ausreichende Menge an Stuhlprobe soll gesammelt werden (min. 1-2 g oder min. 1-2 mL für eine flüssige Probe). Stuhlproben sollten ohne Konservierungsmittel oder Transportmedien in einem sauberen und trockenen Behälter gesammelt werden. Die Proben können vor der Testung im Kühlschrank (2-8°C) für 7 Tage gelagert werden. Für eine

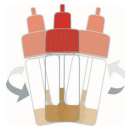
längere Lagerung (maximal 1 Jahr) muss die Probe gefroren gelagert werden (-20°C). In solch einem Fall sollte die Probe vor der Testung vollkommen aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Probe werden nicht empfohlen.

Vorbereitung der Probe

Verwenden Sie für jede Probe ein separates Probensammelröhrchen mit Puffer. Schrauben Sie die Verschlusskappe des Röhrchens ab und stechen Sie den Probennehmer (Spiralstab) viermal in die Stuhlprobe, um ca. 125 mg der Probe zu sammeln.



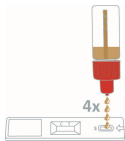
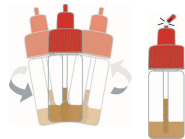
Verschließen Sie das Probensammelröhrchen mit dem Puffer und der Stuhlprobe wieder. Schütteln Sie das Röhrchen, um eine gute Probendispersion zu gewährleisten. Bei flüssigen Stuhlproben entnehmen Sie die Probe mithilfe einer Pipette und fügen Sie 125 µL davon in das Probensammelröhrchen mit Puffer.



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 bereit sind den Test durchzuführen.

1. Entnehmen Sie die NADAL® C. difficile GDH Ag Testkassette dem verschlossenen Folienbeutel und verwenden Sie sie so schnell wie möglich.
2. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen, um eine gute Probendispersion zu gewährleisten. Brechen Sie die Spitze des Röhrchens ab.
3. Verwenden Sie für jede Probe eine separate Testkassette. Geben Sie genau 4 Tropfen in die Probenvertiefung (S) der Testkassette. Starten Sie den Timer.
4. Lesen Sie das Ergebnis genau 10 Minuten nach Zugabe der Probe ab.



10. Testauswertung

Positiv:

Zwei farbige Linien erscheinen im Ergebnisfenster. Eine grüne Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C) und eine rote Linie erscheint im Testlinienbereich (T).



Negativ:

Es erscheint nur eine grüne Linie im Kontrolllinienbereich (C).

Ungültig:

Falls keine Kontrolllinie (C) erscheint, ist der Test als ungültig, ungeachtet der An- oder Abwesenheit der roten Testlinie, zu werten.



Ungenügendes Probenvolumen, abgelauene 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.

Hinweis: Die Farbintensität der roten Linie im Testlinienbereich (T) kann abhängig von der C. difficile GDH-Antigenkonzentration in der Probe variieren. Jedoch können weder der quantitative Wert noch die Anstiegsrate der C. difficile GDH-Antigenkonzentration mit diesem qualitativen Test bestimmt werden.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle: Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende grüne Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

Die Gute Laborpraxis (GLP) empfiehlt den Einsatz von Kontrollmaterialien zum Nachweis der einwandfreien Leistung des Testkits.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® C. difficile GDH Ag Test weist lediglich die Anwesenheit von C. difficile GDH-Antigenen in der Probe (qualitativer Nachweis) nach und sollte ausschließlich für den Nachweis von C. difficile GDH-Antigenen in Stuhlproben verwendet werden. Mit diesem Test können weder der quantitative Wert noch die Anstiegsrate der C. difficile GDH-Antigenkonzentration bestimmt werden.
- Eine zu große Menge an Stuhlprobe kann ein falsches Ergebnis hervorbringen (es erscheinen braune Linien). Verdünnen Sie die Probe mit der Pufferlösung und wiederholen Sie den Test.
- Manche Stuhlproben können die Intensität der grünen Kontrolllinie verringern.
- Der Test liefert eine Verdachtsdiagnose einer C. difficile-Infektion. Eine bestätigte Diagnose der Infektion sollte ausschließlich von einem Arzt nach Evaluierung aller klinischen und labortechnischen Befunde im Zusammenhang mit Ergebnissen weiterer klinischer Beobachtungen gestellt werden.
- Positive Ergebnisse bestätigen die Anwesenheit von C. difficile GDH-Antigenen in Stuhlproben. Sie können jedoch auch durch toxische oder nicht-toxische Stämme von Clostridium difficile verursacht werden. Ein positives Ergebnis sollte mit zusätzlichen Labortechniken bestätigt werden, um den Stamm zu bestimmen.

13. Erwartete Werte

Clostridium difficile wird mit 95-100% der Fälle einer pseudomembranösen Kolitis, 60-75% der Fälle einer

Antibiotika-assoziierten Kolitis und 35% der Fälle einer Antibiotika-assoziierten Diarrhö in Verbindung gebracht.

14. Leistungsmerkmale des Tests

Sensitivität und Spezifität

Stuhlproben von Patienten wurden mit dem NADAL® C. difficile GDH Ag Test und zwei kommerziell erhältlichen Immunoassays (*C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®, Techlab und Wampole® *C. Diff Chek*TM-60, Techlab) getestet. Die folgenden Ergebnisse wurden erhalten:

Sensitivität >99% und Spezifität >99%

Sensitivität >95% und Spezifität >99%

Kreuzreaktivität

Eine Evaluierung wurde durchgeführt, um die Kreuzreaktivität des NADAL® C. difficile GDH Ag Tests zu bestimmen. Es wurde keine Kreuzreaktivität mit üblichen Magen-Darm-Mikroorganismen festgestellt, die gelegentlich im Stuhl vorhanden sind.

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</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, 2015-11-10 OM/UJa

1. Intended Use

The NADAL® C. difficile GDH Ag Test is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase (*C. difficile* GDH) antigens 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 persist in patients and the physical environment for long periods and thereby facilitates its transmission. *C. difficile* is transmitted by the fecal-oral route.

C. difficile is the principal pathogen related to antibiotic associated diarrhea 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 can release two high-molecular-weight toxins: toxins A and B, which are responsible for the clinical manifestations ranging from mild, self-limited watery diarrhea 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-toxigenic strains, making it an excellent biomarker.

3. Test Principle

The NADAL® C. difficile GDH Ag Test is a qualitative lateral flow immunoassay for the detection of *C. difficile* GDH antigens in human faecal samples. Monoclonal antibodies against *C. difficile* GDH antigens are pre-coated in the test line region of the membrane. During testing, the sample reacts with anti-*C. difficile* GDH antibodies coated onto coloured particles which were pre-dried on the internal test strip. The mixture migrates along the membrane by capillary action. In the case of a positive result, specific antibodies present on the membrane react with the mixture conjugate and generate a coloured line.

A green line should always appear in the control line region (C) and serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 NADAL® C. difficile GDH Ag test cassettes
- 10 specimen collection tubes with buffer
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

6. Storage & Stability

Store the test as packaged in the sealed foil pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date printed on the foil pouch. The test cassette should remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze tests.

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.
- 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).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.
- Used testing materials should be discarded according to local regulations.

8. Specimen Collection and Preparation

Specimen Collection and Storage:

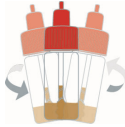
A sufficient quantity of feces should be collected (min. 1-2 g or min. 1-2 mL for liquid sample). Stool samples should be collected without preservatives or transport media in clean and dry containers. Samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for up to 7 days prior to testing. For longer storage (maximum 1 year) the specimen must be kept frozen at -20°C/-4°F. In this case, the sample should be completely thawed and brought to room temperature before testing. Repeated freezing and thawing cycles are not recommended.

Specimen preparation:

Use a separate specimen collection tube with buffer for each sample. Unscrew the cap of the tube and insert the applicator stick into the faecal specimen four times to collect approx. 125 mg of the sample.



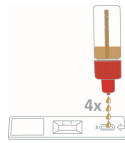
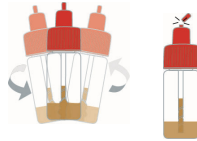
Close the tube with the buffer and stool sample. Shake the tube to ensure good sample dispersion. For liquid stool samples, collect the faecal specimen with a dropper and add 125 µL to the specimen collection tube with buffer.



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 GDH Ag test cassette from the sealed foil pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection tube to ensure good sample dispersion. Break off the tip of the tube.
3. Use a separate test cassette for each sample. Dispense exactly 4 drops into the specimen well (S) of the test cassette. Start the timer.
4. Read the result after exactly 10 minutes after dispensing the sample.



10. Result Interpretation

Positive:

Two lines appear in the result window. A green line appears in the control line region (C) and a red line appears in the test line region (T).



Negative:

Only one green line appears in the control line region (C).



Invalid:

If no green control line (C) develops, the assay is invalid, regardless of the presence or absence of the red test line.



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

Note: The colour intensity of the red line in the test line region (T) may vary depending on the concentration of *C. difficile* GDH antigens in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in *C. difficile* GDH antigens can be determined with this qualitative test.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette:

A green 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.

Good laboratory practice (GLP) recommends the use of control materials to ensure proper test kit performance.

12. Limitations

- The NADAL® C. difficile GDH Ag Test only indicates the presence of *C. difficile* GDH antigens in the specimen (qualitative detection) and should be used for the detection of *C. difficile* GDH antigens in faecal specimens only. Neither the quantitative value nor the rate of increase in *C. difficile* GDH antigen concentration can be determined with this test.
- An excess of sample may cause an inaccurate result (brown lines appear). Dilute the sample with buffer and repeat the test.
- Some stool samples can decrease the intensity of the control green line.
- The test provides a presumptive diagnosis of *C. difficile* infection. A confirmed diagnosis of infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated in conjunction with the results of further clinical observations.
- Positive results confirm the presence of *C. difficile* GDH antigens in faecal samples. However, they may be also caused due to toxigenic or non-toxicogenic strains of *Clostridium difficile*. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to determine the strain.

13. Expected Values

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

14. Performance Characteristics

Sensitivity and specificity

Stool samples from patients were tested using NADAL® C. difficile GDH Ag Test and two commercially available immunoassays (*C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®, Techlab and Wampole® *C. Diff Chek*TM-60, Techlab). The following results were obtained:

Sensitivity >99% and specificity >99%
Sensitivity >95% and specificity >99%

Cross-reactivity

An evaluation was performed to determine the cross-reactivity of the NADAL® C. difficile GDH Ag Test. There was no cross-reactivity found with common gastrointestinal microorganisms occasionally present in faeces:

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</i>	

15. 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. 2, 2015-11-10 OM/UJa

1. Domaine d'application

Le test NADAL® C. difficile GDH Ag est un test rapide chromatographique à flux latéral pour la détection qualitative des antigènes *Clostridium difficile* glutamate déshydrogénase (*C. difficile* GDH) dans les selles humaines. Ce test est une aide au diagnostic des infections par *Clostridium difficile*. Le test est réservé à un usage professionnel.

2. Introduction et signification clinique

Clostridium difficile (*C. difficile* GDH) 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.

C. difficile est l'agent pathogène principal lié à la diarrhée associée aux antibiotiques et/ou à la colite pseudo-membraneuse 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.

Clostridium difficile glutamate déshydrogénase (*C. difficile* GDH) est une enzyme produite en grande quantité par toutes les souches toxigéniques et non toxigéniques, ce qui en fait un excellent marqueur pour l'organisme.

3. Principe du test

Le test NADAL® C. difficile GDH Ag est un immunodosage qualitatif à flux latéral pour la détection des antigènes *C. difficile* GDH dans les selles humaines. Des anticorps monoclonaux anti-antigènes *C. difficile* GDH sont immobilisés à hauteur de la ligne de test de la membrane. Pendant la réalisation du test, le prélèvement réagit aux anticorps anti-*C. difficile* GDH conjugués à des particules colorées immobilisés sur la bandelette. Le complexe migre le long de la membrane par capillarité. Lors d'un résultat positif, les anticorps spécifiques présents sur la membrane réagissent avec les conjugués. Une ligne colorée apparaît.

Une ligne de couleur verte doit toujours apparaître au niveau de la zone de contrôle (C). Cette ligne est considérée comme une procédure de contrôle interne. Elle indique qu'une quantité suffisante de prélèvements a été ajoutée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

4. Matériel fourni

- 10 cassettes NADAL® C. difficile GDH Ag
- 10 tubes d'extraction avec solution tampon
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Récipient collecteur
- Gants à usage unique
- Chronomètre

6. Péréemption et conservation des réactifs

Conservé le test dans son emballage fermé à une température comprise entre 2 et 30°C. Le test reste stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'emballage. Conservé la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler.

7. Précautions et mesures de sécurité

- Test réservé au diagnostic *in-vitro* professionnel.
- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test.
- Ne pas utiliser le test après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Pour chaque prélèvement, utiliser un collecteur différent afin d'éviter tout risque de contaminations croisées.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.
- Le test peut contenir des produits d'origine animale. Une connaissance certifiée de l'origine et/ou état sanitaire de l'animal ne peut totalement garantir la non-transmission d'agents pathogènes. Il est donc recommandé de considérer ces produits comme potentiellement infectieux et les manipuler selon les précautions d'usage (ex : ne pas ingérer ou inhaler).
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Recueil et conservation

Recueillir une quantité suffisante de prélèvement (min 1-2 g ou min 1-2 ml pour un prélèvement liquide). 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) jusqu'à 7 jours avant le test. Dans le cas d'une conservation plus longue (maximum 1 an), congeler les prélèvements (-20°C). Dans ce cas, prendre soin de décongeler les prélèvements avant la réalisation du

test puis de les amener à température ambiante. Ne pas répéter les cycles de congélation-décongélation.

Préparation des prélèvements

Pour chaque prélèvement, utiliser un tube extracteur différent avec une solution tampon. Dévisser le couvercle du tube et insérer le pic collecteur à 4 reprises dans les selles de manière à recueillir une quantité totale de 125 mg.

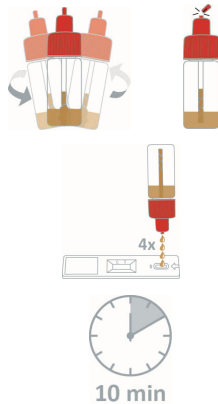
Refermer le tube d'extraction contenant la solution tampon et le prélèvement. Secouer le tube afin d'assurer une bonne dispersion du prélèvement. Dans le cas de selles liquides, recueillir le prélèvement à l'aide d'une pipette et insérer 125 µL dans le tube contenant la solution tampon.



9. Exécution du test

Amener les tests et les prélèvements avec solution tampon à température ambiante (15-30°C) avant de réaliser le test. N'ouvrir l'emballage que quand vous êtes prêts à réaliser le test.

- Sortir la cassette NADAL® C. difficile GDH Ag de son emballage fermé et utiliser la cassette aussi vite que possible.
- Secouer le tube d'extraction afin d'assurer une bonne dispersion du prélèvement. Rompre le bout du flacon.
- Pour chaque prélèvement, utiliser une cassette différente. Déposer 4 gouttes dans le puits de dépôt (S) de la cassette. Démarrer le chronomètre.
- Attendre 10 minutes pour interpréter les résultats du test.



10. Interprétation des résultats

Positif

Deux lignes de couleur apparaissent dans la fenêtre de lecture. Une ligne verte apparaît au niveau de la zone de contrôle (C) et une ligne rouge apparaît au niveau de la zone de test (T).



Négatif

Une ligne verte apparaît au niveau de la zone de contrôle (C).



Non-valide

Dans le cas où aucune ligne de contrôle (C) verte n'apparaît, considérer le test comme non-valide, et ce, indépendamment de la présence ou de l'absence d'une ligne de test rouge.



Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle. Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, ne plus utiliser le test et contacter votre distributeur.

Remarque L'intensité de la ligne rouge au niveau de la zone de test (T) peut varier selon la concentration en antigènes C. difficile GDH dans le prélèvement. Cependant, ce test qualitatif ne fournit ni la valeur quantitative ni le taux d'augmentation de la concentration en antigènes C. difficile GDH du prélèvement.

11. Contrôle qualité

La cassette contient une procédure de contrôle interne.

La ligne verte apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

Les Bonnes Pratiques de Laboratoire recommandent l'utilisation de contrôle afin de s'assurer des bonnes performances du test.

12. Limites du test

- Le test NADAL® C. difficile GDH Ag indique uniquement la présence des antigènes C. difficile GDH dans l'échantillon (détection qualitative). Il doit être uniquement utilisé pour la détection des antigènes C. difficile GDH dans des échantillons de matières fécales. Ni la valeur quantitative, ni le taux d'augmentation de la concentration en antigène C. difficile GDH ne peuvent être déterminés par ce test.
- Une trop grande quantité de prélèvement peut être la cause de faux résultats (des lignes marron apparaissent). Dans ce cas, il est recommandé de diluer le prélèvement avec une solution tampon et de réitérer le test.
- Certains échantillons de selles peuvent diminuer l'intensité de la ligne de contrôle verte.
- Le test permet un diagnostic présomptif d'infection à C. difficile. L'infection doit être confirmée par un médecin après prise en compte de l'ensemble des données cliniques et de laboratoire.
- Un résultat positif confirme la présence de C. difficile GDH dans les selles. Néanmoins, cela peut être dû à des souches toxigéniques ou non toxigéniques de Clostridium difficile. Un résultat positif doit donc être suivi par d'autres techniques de laboratoire pour déterminer la nature de la souche.

13. Résultats attendus

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. Performance du test

Sensibilité et spécificité

Des échantillons de selles provenant de patients ont été étudiés. Les résultats obtenus avec le test NADAL® C. difficile GDH Ag ont été comparés à 2 autres tests immunologiques du marché (C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®, Techlab et Wampole® C. Diff ChekTM-60, Techlab) :

Sensibilité > 99% et spécificité > 99%

Sensibilité > 95% et spécificité > 99%

Réactions croisées

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

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</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, 2015-11-10 ASC

1. Uso previsto

El test NADAL® C. difficile GDH Ag es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa del antígeno de *Clostridium difficile* glutamato deshidrogenasa (C. difficile GDH) en muestras de heces humanas. Este test sirve para ayudar al diagnóstico de *Clostridium difficile* y solo está indicado para el uso profesional.

2. Introducción y significado clínico

El *Clostridium difficile* (C. difficile) es una bacteria anaeróbica Gram positiva formadora de esporas. Esta capacidad del C. difficile para formar esporas, es la característica clave que le permite sobrevivir en los pacientes y el entorno físico durante largos periodos, facilitando su transmisión. Esta bacteria se transmite vía fecal-oral.

El *Clostridium difficile* es el principal patógeno vinculado a la diarrea asociada a antibióticos y/o colitis pseudomembranosa en pacientes hospitalizados. La mayor parte de la flora bacteriana del colon de un adulto sano es generalmente resistente a la colonización por *Clostridium difficile*. Sin embargo, si la flora bacteriana se altera, se pierde la resistencia a la colonización. De modo que cualquier factor asociado a la alteración de la flora intestinal normal aumenta el riesgo de infección por *Clostridium difficile*. Esto se produce después del tratamiento con antibióticos, especialmente aquellos con actividad de amplio espectro, tales como penicilinas, cefalosporinas y clindamicina.

El *Clostridium difficile* puede liberar dos toxinas de alto peso molecular, la toxina A y la toxina B, que son las responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, las cuales van desde la diarrea leve o auto-limitada, a la colitis pseudomembranosa fulminante, megacolon tóxico, y la muerte.

El *Clostridium difficile* glutamato deshidrogenasa (C. difficile GDH) es una enzima producida en grandes cantidades por cepas toxigénicas y no toxigénicas, lo que le hace ser un excelente biomarcador para determinar la presencia del microorganismo.

3. Principio del test

El test rápido NADAL® C. difficile GDH es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección del antígeno de C. difficile GDH en muestras de heces humanas. En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos contra GDH. Durante el proceso, la muestra reacciona con partículas que presentan en su superficie anticuerpos anti-GDH formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con el conjugado y aparecerá una línea coloreada.

Debe aparecer siempre una línea verde en la zona de control (C), ya que sirve como verificación de que el volumen de muestra añadido es suficiente y que la membrana ha reaccionado correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 casetes de test NADAL® C. difficile GDH Ag
- 10 tubos de recolección de muestra con búfer

- 1 manual de instrucciones

5. Material adicional necesario

- Recipiente para la recolección de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C). De esta manera, se mantendrá estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta el momento de uso. No lo congele.

7. Advertencias y precauciones

- Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.
- Lea detenidamente todas las instrucciones antes de comenzar el test.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad.
- No utilice el test si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (área de resultados).
- Para evitar la contaminación cruzada, no toque el área de reacción (área de resultados).
- No sustituya ni mezcle los componentes de diferentes kits de test.
- No coma, beba o fume en la zona de tratamiento de las muestras y de realización del ensayo.
- Utilice ropa de protección adecuada, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección durante la manipulación de las muestras.
- Trate todas las muestras como potencialmente peligrosas y siga las precauciones para riesgos microbiológicos durante todo el procedimiento, y las directrices estándar para su adecuada eliminación.
- 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 estos productos como potencialmente infecciosos, y de acuerdo a las precauciones usuales de seguridad (p. ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente a los resultados.
- Los materiales utilizados se deben eliminar según las regulaciones locales.

8. Toma de muestras y preparación

Recolección de las muestras y almacenamiento

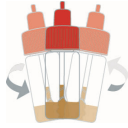
Recolecte suficiente cantidad de muestra de heces (mín. 1-2 g, o ml para muestras líquidas). Almacénelas en un envase limpio y seco sin conservantes ni medios de transporte. Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C) durante 7 días antes de usarse. Para una conservación prolongada deberían congelarse a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente alcanzando la temperatura ambiente antes de su uso. Evite los ciclos repetidos de congelación y descongelación.

Preparación de la muestra

Utilice para cada muestra un diferente tubo de recolección con búfer. Desenrosque la tapa del tubo e inserte el aplicador en la muestra fecal hasta 4 veces para recolectar aprox. 125 mg de muestra



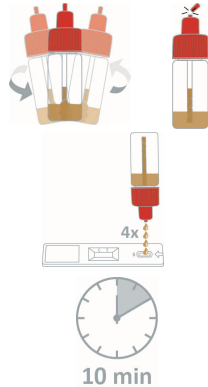
Cierre el tubo con el búfer y la muestra fecal y, a continuación, agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras de heces líquidas, utilice un cuentagotas y añada 125 µL en el tubo recolector con el búfer.



9. Procedimiento del test

Antes de realizar la prueba, lleve los test, las muestras y el diluyente a temperatura ambiente (15-30°C). No abra el envase hasta el momento de realizar el ensayo. Use un test diferente para cada muestra.

1. Saque el casete de test NADAL® C. difficile GDH Ag de su envase sellado y utilícelo lo antes posible.
2. Agite el vial con la muestra para asegurar una buena dispersión. Rompa el extremo superior del vial.
3. Utilice un casete diferente para cada muestra. Dispense 4 gotas en el pocillo correspondiente (S) y active el cronómetro.
4. Lea el resultado exactamente a los 10 minutos de dispensar la muestra.



10. Interpretación de resultados

Positivo:

Aparecen dos líneas en la ventana de resultados: una línea verde en la zona de control (C) y una línea roja en la zona de test (T).



Negativo:

Solo aparece una línea verde (C) en la región de control.



No válido:

Si no aparece la línea verde de control (C), el test no es válido, independientemente de que aparezca o no la línea roja de test (T).

La causa podría ser un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o el uso de reactivos caducados. Si esto ocurre, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de utilizar los test y contacte con su distribuidor.



Nota:

La intensidad de la línea roja de test (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos de *C. difficile* GDH que se encuentre en la muestra. Sin embargo, esta prueba cualitativa no puede determinar ni la cantidad ni el incremento de antígenos de *C. difficile* GDH presente en la muestra.

11. Control de calidad

Este test incluye un control interno del procedimiento: la línea verde (C) que aparece en la ventana de resultados. Esta línea confirma que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente, que el procedimiento ha sido el adecuado y que la membrana ha resonado adecuadamente.

Las *Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)* recomiendan el uso de materiales de control para asegurar el buen funcionamiento de los test.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Clostridium difficile GDH Ag indica únicamente la presencia de antígenos de *C. difficile* GDH en la muestra de heces (detección cualitativa) y solamente debería usarse para este fin. No detecta ni la cantidad ni el aumento de la concentración de antígenos en las heces.
- Si el volumen de muestra es excesivo, pueden darse resultados erróneos (aparición de líneas marrones). Si esto ocurre, diluya la muestra con el búfer y repita el test.
- Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea verde de control.
- Esta prueba proporciona un presunto diagnóstico de infección por *C. difficile*. Solo un médico puede confirmar el diagnóstico de la infección tras evaluar todas las pruebas y los hallazgos de laboratorio, junto con todas las observaciones clínicas.
- Un resultado positivo del test confirma la presencia de antígenos de *C. difficile* GDH en muestras fecales. Sin embargo, ésta puede ser debida a cepas toxigénicas o no-toxigénicas de *Clostridium difficile*. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio para determinar la cepa.

13. Valores esperados

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

14. Características de rendimiento

Sensibilidad y especificidad

Se estudiaron algunas muestras de heces de pacientes utilizando el test rápido NADAL® C. difficile GDH Ag y dos inmunoensayos comercialmente disponibles (*C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE*®, Techlab y Wampole® *C. Diff Chek*™-60, Techlab). Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

Sensibilidad >99% y especificidad >99%

Sensibilidad >95% y especificidad >99%

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar las reacciones cruzadas y las interferencias del test rápido NADAL® C. difficile GDH Ag. No se encontraron reacciones cruzadas con ninguno

de los microorganismos gastrointestinales habituales ocasionalmente presentes en las heces.

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</i>	

15. Referencias

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, 2015-11-10 MP

1. Scopo del test

Il test NADAL® C. difficile GDH Ag è un immunodosaggio cromatografico rapido per l'individuazione qualitativa degli antigeni della glutammato deidrogenasi di *Clostridium difficile* (C. difficile GDH) in campioni di feci umane. Il test è concepito come supporto nella diagnosi di infezioni da *Clostridium difficile* e solo per uso professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il *Clostridium difficile* (C. difficile) è un batterio anaerobico gram-positivo, sporigeno. La capacità del C. difficile di formare spore è la caratteristica chiave che gli permette di sopravvivere nei pazienti e nell'ambiente fisico per lunghi periodi di tempo facilitandone la trasmissione. Il C. difficile si trasmette per via oro-fecale.

Esso è il principale patogeno legato a diarrea associata a cura antibiotica e/o colite pseudomembranosa in pazienti ricoverati. Una flora batterica matura in un adulto sano è generalmente resistente alla colonizzazione del C. difficile. Se però, la normalità della flora enterica è alterata, la resistenza alla colonizzazione viene meno. Qualsiasi fattore associato all'alterazione della normale flora enterica aumenta il pericolo di colonizzazione del C. difficile dopo l'esposizione ad antibiotici, soprattutto quelli a largo spettro come penicillina, cefalosporine e clindamicina.

Il C. difficile è in grado di rilasciare due tossine ad alto peso molecolare: tossina A e tossina B responsabili di manifestazioni cliniche che possono variare da diarrea lieve, semiliquida a colite pseudomembranosa fulminante, megacolon tossico e morte.

La glutammato deidrogenasi del *Clostridium difficile* (C. difficile) è un enzima prodotto in grandi quantità da tutti i ceppi tossigeni e non tossigeni rendendolo un eccellente biomarker.

3. Principio del Test

Il test NADAL® C. difficile GDH Ag è un immunodosaggio qualitativo a flusso laterale per la rilevazione degli antigeni C. difficile GDH in campioni di feci umane. Gli anticorpi monoclonali contro gli antigeni della C. difficile GDH rivestono la membrana nella regione della linea del test. Durante il test il campione reagisce con gli anticorpi anti-C. difficile GDH legati a particelle pre-essiccate sulla striscia interna del test. Il composto migra lungo la membrana per azione capillare. In caso di risultato positivo, gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con il coniugato generando una linea colorata.

Una linea di colore verde dovrebbe sempre comparire nella regione della linea di controllo (C). Essa funge da controllo procedurale, indicando che è stato applicato il giusto volume di campione e che la migrazione lungo la membrana è avvenuta correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 10 test a cassetta NADAL® C. difficile GDH Ag
- 10 fiale di raccolta del campione con soluzione
- 1 istruzioni per l'uso

5. Altri materiali richiesti

- Contenitore di raccolta del campione

- Guanti monouso
- Timer

6. Conservazione e Stabilità

Conservare i test a cassetta nella confezione di vendita a 2-30°C. I test a cassetta rimangono stabili fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. I test vanno conservati nella loro confezione fino all'utilizzo. Non congelare i test.

7. Avvertenze e Precauzioni

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in-vitro*.
- Leggere attentamente la procedura del test prima di eseguirlo.
- Non utilizzare il test oltre la data di scadenza riportata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre un nuovo contenitore di raccolta del campione per ogni campione.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi microbiologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Umidità o temperature elevate possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.

8. Preparazione e Raccolta del Campione

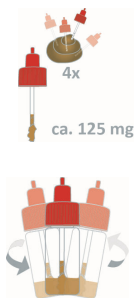
Raccolta e Conservazione del Campione:

Raccogliere la quantità di campione sufficiente (min. 1-2 gr o 1-2 ml in caso di campioni liquidi). Raccogliere i campioni di feci in contenitori asciutti e puliti, senza conservanti oppure terreni di trasporto. I campioni possono essere conservati in frigo (2-8°C) fino a 7 giorni prima dell'esecuzione del test. Per periodi di conservazione prolungati (massimo fino ad 1 anno) i campioni vanno congelati a -20°C/-4°F. In questo caso, i campioni vanno completamente scongelati e portati a temperatura ambiente prima di eseguire il test. Evitare congelamento e scongelamento ripetuto dei campioni.

Preparazione del campione:

Utilizzare un tubo di raccolta del campione differente per ogni campione. Svitare il coperchio del contenitore di raccolta ed inserire l'applicatore nel campione di feci per quattro volte al fine di raccogliere circa 125 mg di campione.

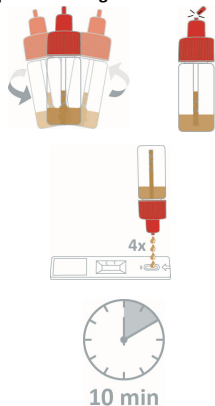
Ri chiudere il contenitore con il campione e la soluzione. Agitare il tubo in modo da assicurare la buona dispersione del campione. Per i campioni liquidi, raccogliere il campione con un contagocce ed aggiungere 125 µL al contenitore di raccolta del campione contenente la soluzione.



9. Procedura del Test

Portare i test ed i campioni con la soluzione a temperatura ambiente (15-30°C) prima di eseguire il test. Non aprire la confezione a meno che non siate pronti ad eseguire il test.

1. Rimuovere il test a cassetta NADAL® C. difficile GDH Ag dalla confezione ed utilizzarlo appena possibile.
2. Agitare la provetta in modo da assicurare la buona dispersione del campione. Rompere la punta della provetta.
3. Utilizzare un nuovo test a cassetta per ogni campione. Versare 4 gocce nel pozzetto di raccolta del campione (S) del test a cassetta. Avviare il timer.
4. Leggere i risultati dopo 10 minuti dall'aggiunta del campione.



10. Interpretazione dei risultati

Positivo:

Compaiono due linee nella finestra di risultato. Una linea verde nella regione della linea di controllo (C) e una linea rossa nella regione della linea del test (T).



Negativo:

Si sviluppa solo una linea di colore verde nella regione della linea di controllo (C).



Non valido:

Se la linea verde di controllo (C) non compare, il test non è valido, indipendentemente dalla presenza o dall'assenza della linea del test.



Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo. In tal

caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.

Nota bene: L'intensità di colore della linea rossa nella regione della linea del test (T) può variare in rapporto alla concentrazione di antigeni della C. difficile GDH nel campione. In ogni caso, nè il valore quantitativo nè il grado di aumento degli antigeni del C. difficile GDH possono essere determinati con questo test qualitativo.

11. Controllo Qualità

Un controllo procedurale interno è inserito nel test a cassetta:

La linea verde che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

La *Buona Pratica di Laboratorio* (GLP) raccomanda l'impiego di metodi di controllo al fine di confermare la corretta performance del kit di test.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® C. difficile GDH Ag indica solo la presenza di antigeni della C. difficile GDH nel campione (rilevazione qualitativa) e va utilizzato per la rilevazione degli antigeni della C. difficile GDH solo in campioni di feci. In ogni caso, nè il valore quantitativo nè l'aumento della concentrazione degli antigeni della C. difficile GDH possono essere determinati con questo test.
- Un eccesso di campione potrebbe causare risultati imprecisi (compaiono linee marroni). In tal caso si consiglia di diluire il campione con la soluzione e ripetere il test.
- Alcuni campioni di feci potrebbero diminuire l'intensità di colore della linea verde di controllo del test.
- Il test fornisce una diagnosi preventiva per infezioni da C. difficile. La diagnosi finale dovrebbe essere emessa esclusivamente da un medico in seguito alla valutazione di tutti gli esami clinici e di laboratorio insieme ai risultati ottenuti da ulteriori osservazioni cliniche.
- Risultati positivi confermano la presenza di antigeni di C. difficile GDH in campioni di feci. Inoltre, essi potrebbero essere dovuti anche ai ceppi *Clostridium difficile* tossigeni o non tossigeni. Un risultato positivo andrebbe confermato attraverso tecniche di laboratorio aggiuntive per individuare il ceppo.

13. Risultati attesi

Il *Clostridium difficile* è associato al 95-100% dei casi di colite pseudomembranosa, al 60-75% dei casi di coliti associate ad antibiotici e al 35% dei casi di diarrea da antibiotici.

14. Caratteristiche Tecniche

Sensibilità e specificità

I campioni di feci sono stati analizzati utilizzando il test NADAL® C. difficile GDH Ag e due immunodosaggi comunemente reperibili in commercio (C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®, Teclab and Wampole® C. Diff ChekTM-60, Teclab). Sono stati ottenuti i risultati seguenti:

Sensibilità: >99% e specificità: >99%

Sensibilità: >95% e specificità: >99%

Reattività incrociata

È stata condotta un'ulteriore valutazione per determinare la reattività incrociata del test NADAL® C. difficile GDH Ag. Non è stata trovata alcuna reattività incrociata con i comuni parassiti gastrointestinali occasionalmente presenti nelle feci:

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</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, 2015-11-10 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® C. difficile GDH Ag jest szybkim testem immunochromatograficznym do jakościowego oznaczania antygenów *Clostridium difficile* dehydrogenazy glutaminianowej (antygenów 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, tworzącą przetrwalniki bakterią, tworzącą C. difficile, tworzącą przetrwalniki bakterią. Zdolność C. difficile do wytwarzania przetrwalników jest główną cechą, umożliwiającą tej bakterii, długie przetrwanie u pacjentów i w otoczeniu, co sprzyja dodatkowo przenoszeniu. C. difficile przenoszone jest drogą fekalno-oralną.

C. difficile jest najczęstszym spotykanym zarazkiem szpitalnym, z którym powiązani są hospitalizowani pacjenci cierpiący na 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 wydalac 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 znakomitym biomarkerem.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® C. difficile GDH Ag jest testem immunochromatograficznym typu Lateral Flow do oznaczania antygenów C. difficile GDH w ludzkich próbkach kału. Monoklonalne przeciwciała przeciwko antygenom C. difficile GDH są wstępnie powleczone w obszarze linii testowej membrany. Podczas badania, próbka reaguje z przeciwciałami przeciw C. difficile GDH, które są powleczone i wstępnie wysuszone na cząsteczkach paska testowego. Mieszanie wędruje przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż membrany. Podczas wyniku pozytywnego specyficzne przeciwciała zawarte w membranie, reagują z mieszaniną konjugatu oraz powodują pojawienie się kolorowej linii.

W obszarze linii kontrolnej, zawsze powinna pojawić się zielona linia, która służy do kontroli procesowej i wskazuje na to, że dodana została wystarczająca ilość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® C. difficile GDH Ag
- 10 próbek na próbkę z buforem
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Pojemniki na próbki
- Rękawiczki jednorazowe
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Przechowywać test w zamkniętym opakowaniu foliowym przy temperaturze 2-30°C. Test jest stabilny do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Kasetka testowa powinna zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym, aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać testów.

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.
- 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 zakaźne odczynniki. 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 gwarantują braku przenoszonych 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).
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wynik testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

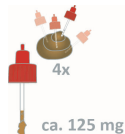
Pobieranie i przechowywanie próbek

Powinna zostać zebrana wystarczająca ilość próbki (min 1-2 g lub 1-2 mL płynnej próbki). Próbki kału powinny być zbierane bez środków konserwujących lub podłoża transportowych do czystego i suchego zbiornika. Przed badaniem próbki mogą być przechowywane w lodówce (2-8°C) przez okres 7 dni. W celu dłuższego przechowywania (maksymalnie jednego roku) próbka musi zostać zamrożona (-20°C). W takim przypadku próbka powinna być zupełnie rozmrożona i doprowadzona do

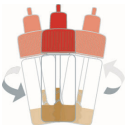
temperatury pokojowej, przed przeprowadzeniem testu. Nie zaleca się ponownego zamrażania oraz rozmrażania próbek.

Przygotowanie próbek

Użyć dla każdej próbki osobną probówkę z buforem. Odkręcić pokrywkę probówki i nakłuć za pomocą przyrządu do pobierania próbek (spiralna szpatułka) cztery razy próbkę kału, aby zebrać około 125 mg próbki.



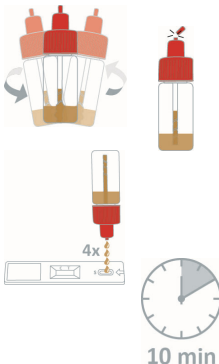
Zamknąć probówkę z buforem i próbką kału. Potrząsnąć probówką z próbką, aby zagwarantować dobre rozproszenie się próbki. Przy płynnych próbkach kału, pobrać próbkę przy pomocy pipety i dodać 125 µL do probówki z buforem.



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.

- Wyjąć test kasetyowy NADAL® C. difficile GDH Ag z zamkniętego foliowego opakowania i użyć go tak szybko jak to możliwe.
- Potrząsnąć probówką, aby zagwarantować dobre rozproszenie się próbki. Wyłamać końcówkę nasadki.
- Dla każdej próbki użyć osobną kasety testową. Dodać dokładnie 4 krople do zagłębienia na próbkę (S) na kasiecie testowej. Włączyć stoper.
- Odczytać wynik po 10 minutach od naniesienia próbki.



10. Interpretacja wyników

Pozytywny:

W polu wyników pojawiają się dwie kolorowe linie. Zielona linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C) i czerwona linia pojawi się w obszarze linii testowej (T).



Negatywny:

Pojawia się tylko zielona linia w obszarze linii kontrolnej (C).



Nieważny:

Jeżeli w obszarze linii kontrolnej (C) nie pojawi się linia, to test jest nieważny, niezależnie od obecności lub braku czerwonej linii testowej.



Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Należy sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasyety testowej. Jeżeli problem będzie

występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

Wskazówka: Intensywność koloru czerwonej linii w obszarze linii testowej (T) może różnić się w zależności od stężenia antygeny C. difficile GDH w próbce. Jednakże nie można oznaczać ani ilościowej wartości, ani stopnia wzrostu stężenia antygeny C. difficile GDH przy pomocy tego jakościowego testu.

11. Kontrola jakości

Test kasetyowy zawiera wewnętrzną kontrolę procesową:

Zielona linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) służy, jako kontrola wewnętrzna. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Dobra praktyka laboratoryjna zaleca stosowanie materiałów kontrolnych do oznaczania poprawnej wydajności zestawu testowego.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® C. difficile GDH Ag wykrywa wyłącznie obecność antygenów C. difficile GDH w próbce (oznaczenie jakościowe) i powinien być wykorzystywany wyłącznie do oznaczania antygenów C. difficile GDH w próbkach kału. Przy pomocy tego testu nie można oznaczać ani ilościowej wartości, ani stopnia wzrostu stężenia antygeny C. difficile GDH.
- Za duża ilość próbki kału może spowodować fałszywy wynik (pojawiają się brązowe linie). Rozcieńczyć próbkę przy pomocy roztworu buforowego i powtórzyć test.
- Niektóre próbki kału mogą zmniejszać intensywność zielonej linii kontrolnej.
- Test dostarcza podejrzenie diagnozy infekcji C. difficile. Potwierdzona diagnoza infekcji powinna być postawiona wyłącznie przez lekarza po kontroli wszystkich klinicznych i laboratoryjnych wyników w połączeniu z wynikami kolejnych obserwacji klinicznych.
- Pozytywne wyniki potwierdzają obecność antygenów C. difficile GDH w próbkach kału. Mogą być one wywołane również toksycznymi lub nietoksycznymi szczepami Clostridium difficile. Pozytywny wynik powinien zostać potwierdzony dodatkowymi technikami laboratoryjnymi, w celu określenia szczepu.

13. Oczekiwane wartości

Clostridium difficile kojarzone jest z 95-100% przypadków rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego, 60-75% przypadków poantybiotykowego zapalenia jelita grubego oraz 35% przypadków poantybiotykowej biegunki.

14. Charakterystyka testu

Czułość i swoistość

Próbki kału pacjentów zostały przebadane przy pomocy testu NADAL® C. difficile GDH Ag oraz dwóch komercyjnie dostępnych testów immunologicznych (C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®, Teclab i Wampole® C. Diff Chek™-60, Teclab). Osiągnięte zostały następujące wyniki:

Czułość >99% i swoistość >99%

Czułość >95% i swoistość >99%

Reakcje krzyżowe











W celu określenia reakcji krzyżowej, przeprowadzona została ewaluacja testu NADAL® C. difficile GDH Ag. Nie stwierdzono żadnej reakcji krzyżowej z potocznymi pasożytami przewodu pokarmowego, które mogą sporadycznie znajdować się w kale.

<i>Campylobacter</i>	<i>Listeria</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Yersinia</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Shigella</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, 2015-11-10 AM

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	Consultense 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	Límites 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

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

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