

VIDAS[®] C. difficile Toxin A & B (CDAB)

Testul VIDAS[®] C. difficile Toxin A & B (CDAB) este un test automat pentru utilizarea pe aparatele din gama VIDAS pentru detectia calitativa a toxinei A *Clostridium difficile* si a toxinei B in fecale folosind tehnica ELFA (Enzyme-Linked Fluorescent Assay). Testul de toxina A si B VIDAS C. difficile (CDAB) este un ajutor in diagnosticarea bolilor asociate cu *Clostridium difficile* (CDAD).

SUMAR SI EXPLICATIE

Flora bacteriana normala din intestine ofera o bariera ecologica impotriva colonizarii semnificative prin organisme patogene; pierderea protectiei prin folosirea antibioticelor poate permite cresterea excesiva a endogenelor sau patogenelor obtinute nosocomial cum ar fi *Clostridium difficile*.

C. difficile a fost cunoscut ca fiind un agent major etiologic al pseudomembranos colitis PMC asociat cu antibioticele. PMC este un sindrom clinic definit, asociat cu utilizarea de antibiotice, unde nodulii si placile pseudomembranei se formeaza in colon distal, sigmoid si rect (1, 2, 3). Daca nu este recunoscut si netratat poate degenera intr-o boala fatala. C. difficile a fost de asemenea implicat in colite asociate cu antibiotice (AAC) si diaree asociata cu antibiotice (AAD) (4).

Achizitia nosocomiala a C. difficile este o analiza serioasa pentru unele institutii, in special pentru acele cu populatii stationare, centre de chemoterapie sau de ingrijire a pacientilor pe termen lung (5, 6, 7). De asemenea copiii si pacientii cu fibrozine cistice (CF) s-au prezentat ca fiind purtatori asimptomatici de toxigenic C. difficile cu rate de colonizare de 50% la copii (8) si 32% la pacientii CF (9).

Diagnosticarea clinica a bolilor asociate cu C. difficile (CDAD) este facuta utilizand un numar de criterii, care de obicei includ urmatoarele: pacientul produce cel putin 6 scaune neformate in timp de 36 de ore, in urma unei terapii cu antibiotice timp de 8 saptamani de la instalarea diareei, nici o alta cauza pentru diaree si raspuns adecvat la terapie.(10).

C. difficile poate fi toxogenic sau nontoxiogenic. Tulpinile toxigenice ale C. difficile produc o enterotoxina (toxina A) precum si citotoxina (toxina B) in general in cantitati egale.(2, 11).

Oricum, unele tulpini (serogrup F) produc toxina B dar nu si toxina A (12). Este posibil ca aceste tulpini sa fie sub diagnosticate datorita utilizarii comune a metodelor de diagnosticare care detecteaza doar toxina A (2, 11).

VIDAS C. difficile Toxina A & B trebuie folosite ca sprijin in diagnosticarea bolilor asociate cu *Clostridium difficile*. Aceasta permite detectarea de C. difficile toxina A si toxina B in fecale (13).

PRINCIPIU

Principiul testului combina o metoda de analiza imunologica enzimatica de tip sandwich in doua etape cu detectia finala in fluorescenta (ELFA).

Recipientul Fazei Solide (SPR[®]) serveste atat drept faza solida cat si drept dispozitiv de pipetare pentru test. Reactivii pentru test sunt gata de utilizare si sunt pre-distribuiti pe stripurile sigilate cu reactivi.

Cei patru pasi ai reactiei sunt efectuati in mod automat de catre aparat. Mediul de reactie este circulat in interiorul si in afara SPR de mai multe ori. Fiecare pas este urmat de o etapa de spalare care elimina componentele nelegate:

- Legarea specifica a toxinei A si/sau B prezente in proba cu anticorpii anti-toxin A (iepure policlona) si anticorpii anti-toxin B (soarece monoclonal) captusind interiorul SPR-ului.
- Legarea intre anticorpii toxina A si anti-toxina A (soarece) conjugat cu biotina si legat intre anticorpii toxina B and anti-toxin B (soarece) conjugat cu biotina.
- Prezenta biotinei este detectata prin incubare cu streptavidin conjugata cu fosfat de alcalina.
- Detectia: fosfataza alcalina catalizeaza hidroliza substratului (4-Methyl-umbelliferyl fosfat) intr-un produs fluorescent (4-Methyl-umbelliferone) a carui fluorescenta masoara 450 nm.

Intensitatea fluorescentei creste in conformitate cu cantitatea toxinelor A si/sau B prezente in proba.

Cand testul VIDAS C. difficile Toxin A & B este finalizat, rezultatele sunt analizate automat de catre aparat, se genereaza o valoare a testului, si se printeaza un rezultat pentru fiecare proba.

CONTINUTUL KITULUI (60 TESTE) :

60 stripuri CDAB	STR	Gata de utilizare.
60 CDAB SPRs (2 x 30)	SPR	Gata de utilizare. Anticorpi <i>C. difficile</i> anti-toxin A policlonal de iepure si anti-toxin B monoclonal de soarece.
1 Standard (1 x 4 ml) (lichid)	S1	Diluarea toxin recombinant A din <i>C. difficile</i> in tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanti.
1 Control pozitiv Toxin A (1 x 4 ml) (lichid)	C1	Diluarea toxin recombinant A din <i>C. difficile</i> in tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanti. Datele MLE indica TV (Valoare Test) : "Control C1 (+) Test Value Range"
1 Control negativ (1 x 4 ml) (lichid)	C2	Tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanti. Datele MLE indica TV (Valoare Test) : "Control C2 (-) Test Value Range"
1 Control pozitiv Toxin B (1 x 4 ml) (lichid)	C3	Diluarea toxin recombinant B din <i>C. difficile</i> in tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanti. Datele MLE indica TV (Valoare Test) : "Control C3 (+) Test Value Range"
1 diluent (1 x 61 ml) (lichid)	R1	Gata de utilizare. Tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + Ser fetal de vitel 50% + detergent + conservanti.
Specificatii pentru datele master de calibrare din fabrica necesare pentru a calibra testul: • Data MLE (Master Lot Entry) furnizate impreuna cu kitul. sau • Cod de bare MLE imprimat pe eticheta de pe cutie.		
1 Insert tehnic furnizat in kit sau care poate fi descarcat de pe site-ul www.biomerieux.com/techlib		

SPR :

Interiorul SPR este captusit in timpul productiei cu anticorpi anti-*C. difficile* toxin A si toxin B. Fiecare SPR este identificat prin codul CDAB. Extrageți din punga numai numarul necesar de SPR si **dupa deschidere resigilati punga cu atentie.**

Stripul de reactivi:

Stripul este format din 10 godeuri acoperite cu folie sigilatoare etichetata. Eticheta contine un cod de bare care indica in principal codul analizei, numarul de lot al kitului si data de expirare. Folia primului godeu este perforata pentru a facilita introducerea probei. Ultimul godeu al fiecarui strip este o cuveta in care se realizeaza citirea fluorimetrica. Godeurile din sectiunea centrala a stripului contin diversii reactivi necesari pentru test.

Descrierea stripului CDAB:

Godeu	Reactivi
1	Godeul probei.
2 - 3 - 4	Solutie de spalare: Tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + detergent + conservanti (600 µl).
5	Conjugat : Anticorp monoclonal diluat de soarece anti- <i>C. difficile</i> toxin A conjugat cu anticorp monoclonal biotina si soarece anti- <i>C. difficile</i> toxin B conjugat cu biotina + conservanti (400 µl).
6	Tracer : Streptavidin marcata cu fosfataza alcalina + tampon salin TRIS* 0,05 mol/l (pH 6.0) + conservanti (400 µl).
7 - 8 - 9	Solutie de spalare: Tampon salin TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + detergent + conservanti (600 µl).
10	Cuveta de citire cu substrat: 4-Methyl-umbelliferyl phosphate (0,6 mmol/l) + diethanolamine DEA** (0,62 mol/l sau 6,6%) pH 9,2 + 1 g/l azida de sodiu (300 µl).

* Cuvânt de avertizare: **ATENȚIE**

**Frază de pericol**

H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii.

Frază de precauție

P280 : Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P302 + P352 : ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: spălați cu multă apă.

P333 + P313 : În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul.

** Cuvânt de avertizare: **PERICOL**

Frază de pericol

H318 : Provoacă leziuni oculare grave.

Frază de precauție

P280 : Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/ echipament de protecție a feței.

P305 + P351 + P338: ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți.

Pentru mai multe informații, consultați Fisa Tehnică de Securitate.

MATERIALE SI ACCESORII DE UNICA FOLOSINTA NECESARE DAR NEFURNIZATE

- Pipeta cu varf de unica folosinta calibrata sa distribuie 300 µl, 200 µl si 1 000 µl..
- Manusi de unica folosinta, fara pudra.
- Centrifuga capabila de $\geq 12,000$ g.
- Polipropilen sau alte tuburi de centrifuga potrivite pentru diluarea probei si centrifugarea (cu o capacitate de cel putin 1,5 ml).
- Pipete pentru transferul probei utilizate sa masoare cantitatea potrivita de proba pentru testare.
- Aplicator stick sau ansa.
- Pentru alte materiale si accesorii de unica folosinta a se vedea Manualul Utilizatorului.
- Aparate din gama VIDAS

ATENTONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

- **Destinat numai diagnosticarii *in vitro*.**
- **A se utiliza numai de catre personal calificat.**
- Acest kit contine produse de origine animala. Cunoasterea atestata a originii si/sau a starii sanitare a animalelor nu garanteaza in totalitate absenta agentilor patogeni transmisibili. De aceea se recomanda ca aceste produse sa fie tratate ca fiind potential infectioase si manipulate respectand masurile de siguranta obisnuite (a nu se ingera sau inhala).
- Reactivii kitului contin azida de sodiu care poate reactiona cu plumbul sau cuprul din instalatii si poate forma azide de metal explozive. Daca vreun lichid continand azida de sodiu patrunde in sistemul instalatiilor sanitare, scurgerile trebuie clatite cu apa din abundenta pentru a evita concentrarile.
- Nu utilizati reactivii dupa data de expirare indicata pe eticheta.
- Nu amestecati reactivii sau materialele de unica folosinta din loturi diferite.
- Nu utilizati SPR daca punga este perforata.
- Nu utilizati SPR vizibil deteriorate (folie sau plastic deteriorate).
- Utilizati manusi **fara pudra**, deoarece s-a indicat faptul ca pudra induce rezultate false in cazul anumitor teste imunologice enzimactice (14).
- Utilizati pipete calibrate sa distribuie controale standard, pozitive si negative.

- Materialele pentru diluarea probei altele decat VIDAS C. difficile Toxin A & B Sample Diluent nu trebuie utilizate cu testul VIDAS C. difficile Toxin A & B.
- Cuveta optica cu substrat (godeul 10) contine un agent iritant (diethanolamine 6,6 %). Consultati frazele de pericol "H" si frazele de precautie "P" enumerate mai sus.
- Picaturile scurse trebuie sterse in totalitate dupa tratarea cu detergent lichid sau cu o solutie de inalbitor casnic continand cel putin 0,5% hipoclorit de sodiu. A se vedea Manualul Utilizatorului pentru modul de curatare al picaturilor de pe sau din interiorul aparatului. Nu autoclavati solutiile ce contin inalbitor.
- Aparatul trebuie curatat si decontaminat cu regularitate (a se vedea Manualul Utilizatorului).

CONDITII DE PASTRARE

- Pastrati kitul VIDAS C. difficile Toxin A & B Kit la 2-8°C.
- **Nu congelati reactivii.**
- **Pastrati toti reactivii neutilizati la 2-8°C.**
- Dupa deschiderea kitului, verificati ca punga SPR sa fie sigilata in mod corect si nedeteriorata. In caz contrar, nu utilizati SPR.
- **Resigilati cu atentie punga cu desiccantul in interior dupa utilizare pentru a mentine stabilitatea SPR si repuneti intregul kit la 2-8°C.**
- In cazul pastrarii conform conditiilor recomandate, toate componentele sunt stabile pana la data de expirare indicata pe eticheta.

PROBE

Tipul, recoltarea si pastrarea probelor:

Probele fecale trebuie colectate conform cu standardul procedurilor de laborator si pastrate la 2 - 8°C pana cand sunt procesate.

Transportati probele la laborator cat mai repede posibil, dupa primire.

Probele fecale pot fi tinute pana la 3 zile (de la colectare) la 2 - 8°C inainte de procesare fara pierderi mari la detectarea *C. difficile* Toxin A & B. Pastrarea la 2 - 8°C pe o perioada mai lunga nu este recomandata. Proba poate fi pastrata la o temperatura scazuta de $-25 \pm 6^\circ\text{C}$ pentru o luna si dupa o luna la -70°C (sau mai rece). Evitati congelarea repetata si ciclurile de decongelare.

Un tampon rectal nu va da suficiente probe pentru testare si prin urmare este inacceptabil. Evitati recipientele care pot contine detergenti, prezervative sau medii, deoarece pot interfereza cu rezultatele testelor VIDAS *C. difficile* Toxina A & B.

Standarde, controale, si pregatirea probei pentru testul CDAB:

Probe:

Important: este hotarator ca probele fecale sa fie amestecate bine inainte de inceperea procesarii probei. Lipsa de omogenitate intr-o proba fecala poate duce la rezultate incorecte. Amestecarea completa a speciiminelor fecale este esentiala in evitarea acestei probleme. Proba diluata trebuie sa fie omogena dupa amestecare. Aceasta va ajuta la asigurarea validitatii rezultatelor.

Scaune lichide:

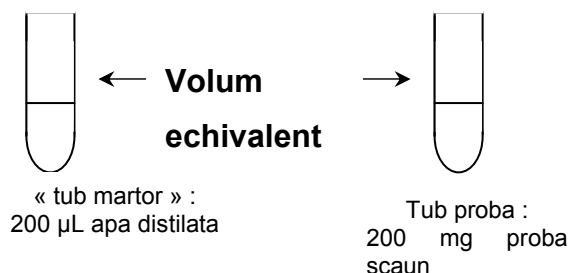
1. Omogenizati proba prin aspirare si dispersare succesiva cu pipeta de transfer.
Utilizand aceeasi pipeta de transfer, se pipeteaza **200 µl** de proba fecala lichida intr-un tub de centrifuga curat.
2. Utilizand o pipeta cu varf de unica folosinta, se adauga **1 000 µl** de diluent pentru proba (R1) in tubul de centrifuga
3. Se omogenizeaza in continuare cu pipeta de transfer ca la pasul 1.
Apoi se amesteca utilizand un vortex-tip mixer pana cand se obtine un mediu omogen.
Este esential ca toate partile probei sa fie uniform amestecate cu diluentul probei (R1).
4. Centrifugati timp de 5 minute la 2-25°C si la minim 12 000 g.
5. Utilizand o pipeta cu varf de unica folosinta, colectati 300 µL de supernatant pentru a realiza testul de VIDAS *C. difficile* Toxin A & B test.

Nota : Daca aerosolul sau materialul lipid raman la suprafata supernatantului dupa centrifugare, colectati proba de mai jos de suprafata.

Scaune solide si semi-solide:

1. Pentru a asigura un transfer precis de 200 mg scaun semi-solid sau solid, mai intai pipetati 200 µL de apa distilata intr-un tub de centrifuga curat: acest tub va fi utilizat ca "tub martor";
2. Utilizand un bat aplicator de lemn amestecati viguros proba de materie fecala.

3. Transferati o cantitate de fecale (200 mg) echivalenta cu volumul din tubul standard intr-un tub nou de centrifuga, curat, identificat ca tub test (vezi mai jos); Depuneti cantitatea de proba pe fundul tubului pentru a vizualiza mai bine echivalenta cu volumul de apa distilata din tubul martor.



Nota: Indepartati tubul standard dupa transferarea fiecarui proba fecal solid sau semi-solid.

4. Adaugati **1000 µL** din diluantul proba (R1) in tubul test utilizand o pipeta cu varf de unica de folosinta.
5. **Omogenizati** proba utilizand un aplicator stick si apoi amestecati utilizand un mixer de tip vortex pana cand proba apare omogena. Este **esential ca toate fragmentele probei sa fie amestecate uniform cu proba de diluent. (R1);**
6. Centrifugati timp de 5 minute la 2-25°C la un minim de 12,000g;
7. Utilizand o pipeta cu varf de unica folosinta colectati 300 µL de supernatant pentru a realiza testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B.

Nota :

- Daca aerosolul sau materialele lipide raman la suprafata supernatantului dupa centrifugare, colectati proba de mai jos de suprafata;
- In cazurile in care fecalele semi-solide sunt mai mult lichide decat solide, procedura de preparare a probei poate fi efectuata utilizand instructiunile date pentru fecalele lichide (vedeti sectiunea "Proba: fecale lichide").

Standarde si controale:

Standardul si controalele pozitive si negative trebuie procesate ca si probele pacientului.

1. Amestecati viguros folosind un vortex tip mixer.
2. Colectati 200 µl de standard and controale folosind o pipeta cu varf de unica folosinta si pipetati intr-un tub curat de centrifuga.
3. Adaugati **1 000 µl** de diluent pentru proba(R1) in tubul de centrifuga utilizand o pipeta cu varf de unica folosinta.
4. Amestecati folosind un vortex tip mixer.
5. Utilizand o pipeta cu varf de unica folosinta, colectati 300 µl de supernatant pentru a realiza testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B test.

Procesarea probelor pastrate:

Probele de supernatant procesate, standardele si controalele pot si pastrate pana la 48 de ore 2-8°C inainte de a fi testate cu VIDAS CDAB.

Dupa 48 ore, supernatantii, standardele si controalele pot fi indepartate.

INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

Pentru instructiuni complete, vezi Manualul Utilizatorului.

Introducerea datelor protocolului VIDAS® PTC Citirea Protocolului de Schimbare a testului VIDAS® (PTC) date protocol si date MLE

Atunci cand folositi testul pentru prima data:

Cu cititorul extern de coduri de bare,

1. Scanati codul(rile) de bare de la finalul insertului tehnic. Aceasta citire permite transferul datelor protocolului VIDAS® PTC in softul instrumentului pentru actualizarea acestuia.
2. Scanati datele MLE de pe eticheta cutiei.

Nota: In cazul in care datele MLE au fost citite inainte de datele protocolului VIDAS® PTC protocol, recititi datele MLE.

Cand deschideti un nou lot de reactivi:

Introduceti specificatiile (sau datele master din fabrica) in instrument folosind datele lotului Master (MLE).

Daca aceasta operatiune nu este efectuata inainte de initierea testelor, instrumentul nu va putea imprima rezultatele.

Nota: datele lotului master trebuie sa fie introduse o singura data pentru fiecare lot.

Puteți introduce datele MLE **manual sau în mod automat** in functie de instrument (consultati Manualul Utilizatorului).

Calibrare

Calibrarea, utilizand etalonul furnizat in kit, trebuie efectuata de fiecare data cand deschideti un nou lot de reactivi, dupa introducerea datelor lotului master. Calibrarea trebuie apoi efectuata la fiecare 14 zile. Aceasta operatie furnizeaza curbe de calibrare specifice aparatului si compenseaza posibilele variatii minore in semnalul analizei pe durata perioadei de valabilitate a kitului.

Standardul, identificat prin S1, trebuie testat **in duplicat** (a se vedea Manualul Utilizatorului). Valoarea standardului trebuie sa se incadreze in limitele RFV (Valoarea Fluorescentei Relative) setate. Daca acest lucru nu se intampla, recalibrati.

Procedura

1. Scoateti din frigider numai reactivii necesari.
2. Utilizati un strip "CDAB" si un SPR "CDAB" din kit pentru fiecare proba, control sau standard ce urmeaza a fi testate. **Asigurati-va ca punga de pastrare a fost resigilata cu atentie dupa ce SPR-urile necesare au fost scoase.**
3. Testul este identificat prin codul "CDAB" pe aparat. Standardul trebuie identificat prin "S1", si testat in duplicat. Daca urmeaza a fi testate controalele pozitive, acestea trebuie identificate prin "C1" si "C3". Daca urmeaza a fi testat controlul negativ, acesta trebuie identificat prin C2.

4. Pentru acest test, cantitatea de standard, de proba supernatant si de control procesate este de 300 µl.

5. Introduceti SPR-urile "CDAB" si stripurile "CDAB" in aparat. Verificati daca etichetele colorate continand codul analizei de pe SPR se potrivesc cu Stripurile Reactivilor.

6. Initiati analiza conform instructiunilor din Manualul Utilizatorului. Toti pasii analizei sunt efectuati in mod automat de catre aparat.
7. Analiza va fi finalizata in decurs de aproximativ 75 de minute. La finalizarea analizei, scoateti SPR si stripurile din aparat.
8. Aruncati SPR si stripurile folosite intr-un recipient corespunzator.

REZULTATE SI INTERPRETARE :

Fluorescenta este masurata de doua ori in cuveta de citire a Stripului cu Reactivi pentru fiecare proba testata. Prima citire este o citire de referinta a cuvetei substratului inainte ca SPR-ul sa fie introdus in substrat. A doua citire este efectuata dupa incubarea substratului cu enzima ramasa in interiorul SPR-ului. RFV (Valoarea Fluorescentei Relative) este calculata prin scaderea citirii de referinta din rezultatul final. Aceasta calculatie apare pe fisa rezultatului.

Valoarea testului este calculata pentru fiecare proba de catre aparatul dupa cum urmeaza :

Valoare test = RFV a pacientului / standard RFV

Atat valoarea testului cat si interpretarea apar pe fisa de analize. Interpretarea in conformitate cu valoarea testului este dupa cum urmeaza :

Valoare Test	Rezultat
< 0,13	Negativ
≥ 0,13 la < 0,37	Echivoca
≥ 0,37	Pozitiv

In cazul rezultatelor echivoce datorita heterogenitatii distributiei toxinei se recomanda repetarea testului utilizand fie proba originala fie o proba proaspata. Aceasta proba trebuie colectata int-un timp de pana la doua saptamani in concordanta cu semnele clinice si istoricul pacientului. Daca rezultatul este in continuare echivoc, proba trebuie testata prin alta metoda.

Rezultatele invalide apar cand citirea de fond pentru stripul test este mai sus de valoarea de cut-off predeterminanta, indicand o contaminare a substratului la nivel inferior. Probele cu rezultate invalide trebuie repetate utilizand o proba original procesata sau daca este posibil prin utilizarea unei probe proaspete.

Interpretarea rezultatelor testului trebuie facuta luand in considerare istoricul pacientului si rezultatele altor teste efectuate.

CONTROL DE CALITATE

Doua controale pozitive si unul negativ sunt incluse in fiecare kit VIDAS C. difficile Toxin A & B . Aceste controale trebuie efectuate imediat dupa deschiderea unui nou kit pentru asigurarea ca performanta reactivului nu a fost alterata. Fiecare calibrare trebuie de asemenea verificata utilizand aceste controale. Testati controalele conform specificarilor din ghidurile de reglementare ale laboratoarelor. Controalele sunt procesate ca probe ale pacientului si sunt pipetate direct in godeurile proba ale stripurilor reactive VIDAS C. difficile Toxin A & B. Aparatul va fi capabil sa verifice valorile de control daca sunt identificate cu C1, C2 si C3. Rezultatele nu pot fi validate daca valorile de control deviaza de la valorile estimate.

Nota

Este responsabilitatea utilizatorului sa efectueze Controlul Calitatii in conformitate cu orice reglementari locale aplicabile.

LIMITARILE METODEI

1. Materialele diluante de proba altele decat VIDAS C. difficile Toxin A & B nu trebuie utilizate cu testul VIDAS C. difficile Toxin A & B.
2. Meconium poate interfera cu testul VIDAS C. difficile Toxin A & B – nu testati probele pe copii mai mici de 2 ani.
3. Probele fecale care par a avea mari cantitati de grasime nu au fost evaluate complet. Evitati luarea de probe de din acest material VIDAS C. difficile Toxin A & B.
4. Datorita eterogenitatii probei, este esential ca amestecarea probelor de fecale sa se faca meticulos, pentru a evita rezultatele discrepante. Probele care dau rezultate contradictorii cu informatiile clinice disponibile trebuie retestate utilizand o proba proaspata.

PERFORMANTA**Precizie:**

Un studiu de precizie a fost efectuat in 3 locatii utilizand 6 probe: 2 negative, 1 echivoc, 3 pozitive (scazute, medii si crescute)

Fiecare proba a fost testata in duplicat in 2 cicluri pe zi cu fiecare din cele 2 loturi de reactivi la fiecare dintre cele 3 locatii. Fiecare lot a fost testat pe o perioada de 6 zile (N = 144 per proba).

Precizia intra testului (in timpul circuitului de precizie), precizia inter testului (intre circuite, intre zile, intre loturi si intre precizia locatiilor), si precizia totala au fost calculate in functie de recomandarile CLSI EP5-A2.

Rezultatele sunt date in tabelul de mai jos:

Test de precizie VIDAS C. difficile Toxin A & B

		Precizie intra-test		Precizie inter-test		Precizie totala	
Proba	Valoare medie test	Deviatie standard	CV (%)	Deviatie standard	CV (%)	Deviatie standard	CV (%)
Negativ 1	0,018	0,0049	26,3	0,0050	26,8	0,0069	37,6
Negativ 2	0,088	0,0060	6,8	0,0081	9,2	0,0101	11,5
Echivoc	0,197	0,0091	4,6	0,0169	8,6	0,0192	9,7
Slab pozitiv	0,678	0,0256	3,8	0,0622	9,2	0,0673	9,9
Mediu pozitiv	1,340	0,0446	3,3	0,1105	8,2	0,1192	8,9
Puternic pozitiv	2,914	0,0831	2,9	0,1987	6,8	0,2153	7,4

5. Nivelele de toxina pot varia de la o proba a unui pacient la altul.
6. Doar un rezultat negativ VIDAS C. difficile Toxin A & B nu poate exclude posibilitatea unei colite *difficile*-asociate sau diareea. Pot fi rezultatele unor probe, manipulari sau pastrari de probe in mod inadecvate. Evaluati intotdeauna rezultatele testelor VIDAS C. difficile Toxin A & B prin semne clinice si istoricul pacientului cand diagnosticati bolile relationate cu C. difficile.
7. Doar un rezultat test pozitiv VIDAS C. difficile Toxin A & B assay nu trebuie utilizat pentru diagnosticarea colitei C. difficile asociate sau diareei. Rezultatele testului VIDAS C. difficile Toxin A & B trebuie evaluate prin semnele clinice si istoricul pacientului cand diagnosticati bolile relationate cu C. difficile.

DATE EPIDEMIOLOGICE

Intr-un studiu European (15) realizat de ESGCD (European Study Group pe *Clostridium difficile*) media frecventei de fecale cu rezultate pozitive de toxine colectate de la 136 spitale a fost de 9,5%. In America de Nord, dintr-o cercetare canadiana (16) incluzand 380 spitale, media ratelor de test pozitiv a avariat de la 13,2% la 17,2% in functie de marimea spitalului (<300 la >500 paturi), cu o medie (*Clostridium difficile*-Associated Diseases) de incidenta intre 23,5 si 40,3 cazuri pe 100,000 zile de pacient. In SHEA (Societatea de Sanatate Epidemiologica din America) (17) rata de raportare a fost intre 17 si 60 cazuri pe 100,000 zile de pacient.

Reactivitatea incrucisata si interferenta:

Pentru testarea reactivitatii incrucisate, fiecare organism a fost diluat in VIDAS *C. difficile* Toxin A & B Negative Control, procesat ca o proba a pacientului si testat singular cu testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B. Pentru testarea interferentei fiecare organism a fost diluat in controale pozitive, procesat ca o proba a pacientului si testat singular cu testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B. Organismele au fost testate la o concentratie de $1 \cdot 10^7$ CFU/ml (0.033 McFarland) cu exceptia *C.sordelli* care a fost testata la $3 \cdot 10^8$ CFU/ml (1 McFarland).

Urmatorul tabel indica organisme care fost testate si nu au prezentat reactivitate incrucisata sau interferente cu teste VIDAS *C. difficile* Toxin A & B.

<i>Staphylococcus aureus ssp aureus</i>
<i>Shigella flexneri</i>
<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Shigella sonnei</i>
<i>Salmonella group B (paratyphi B)</i>
<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7
<i>Escherichia coli</i>
<i>Candida albicans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Campylobacter jejuni ssp jejuni</i>
<i>Campylobacter coli</i>
<i>Vibrio cholerae</i>

<i>Aeromonas hydrophila ssp hydrophila</i>
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Porphyromonas assacchrolyticus</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>
<i>Clostridium difficile</i> (non-toxigenic) VPI 0210114
<i>Clostridium butyricum</i>
<i>Clostridium subterminale</i>
<i>Clostridium sordelli*</i>
<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium tertium</i>
<i>Clostridium tetani</i>
<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium novyi</i>

* O reactivitate incrucisata poate fi observata cu *C.sordelli* VPI9048 in functie de conditiile de cultura.

In timpul incercarilor clinice, nu s-a observat nici o interferenta cu probele fecale care prezentau o mare cantitate de mucus sau sange.

Testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B a fost evaluat utilizand cateva tulpini de *C. difficile*. Tulpinile au fost dezvoltate in bulion Yeast Peptone si testate de reactivitate cu testul VIDAS *C. difficile* Toxin A & B. Rezultatele sumarizate mai jos indica faptul ca VIDAS CDAB a identificat tulpinile toxigenice ale *C.difficile*, chiar si pe acelea producatoare doar de toxina B.

Tip <i>C.difficile</i>	% pozitiv de VIDAS CDAB / numar total de tulpini
A+/B+	100% (23/23)
A-/B+	83% (15/18*)

* Trei (3) A-/B+ tulpini care au dat rezultate echivoce cu testul VIDAS CDAB.

Limita de detectie

Limita de detectie a fost evaluata utilizand un sir de dilutii de recombinant *C.difficile* toxine A si B in solutia tampon de albumina TRIS-bovine.

Testul VIDAS *C. difficile* Toxina A & B va detecta Toxina A la un nivel de ≥ 3 ng/ml si Toxina B la un nivel de ≥ 1 ng/ml.

Performanta clinica

1011 probe fecale proaspete au fost testate la doua clinici diferite(SUA si Europa). Fiecare proba a fost testata utilizand testul VIDAS C. difficile Toxin A & B pe aparatul VIDAS si pe manualul comercial disponibil EIA. Testul celular de citotoxicitate (standard de aur) testand fiecare proba a fost centralizat si efectuat la un al treilea site.

Testul VIDAS C. difficile Toxin A & B a fost comparat cu testul celular de citotoxicitate si testat cu comercialul EIA.

Test VIDAS C. difficile Toxin A & B comparat cu testul Cellular Cytotoxicity

		Sit 1			Sit 2			Toate situurile		
		Test Celular de Citotoxicitate			Test Celular de Citotoxicitate			Test Celular de Citotoxicitate		
		Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total
VIDAS	Pozitiv	68	2	70	38	0	38	106	2*	108
	Echivoc	6	20	26	6	10	16	12	30	42***
	Negativ	9	518	527	5	329	334	14**	847	861
Total		83	540	623	49	339	388	132	879	1011
Performanta		Valoare (%)	95% interval de siguranta		Valoare (%)	95% interval de siguranta		Valoare (%)	95% interval de siguranta	
Sensibilitate		88,3	79,0 – 94,5		88,4	74,9 – 96,1		88,3	81,2 – 93,5	
Specificitate		99,6	98,6 – 99,9		100,0	98,9 – 100,0		99,8	99,2 – 99,9	
Valoare predictiva pozitiva (PPV)		97,1	90,1 – 99,7		100,0	90,7 – 100,0		98,1	93,5 – 99,8	
Valoare predictiva negativa (NPV)		98,3	96,8 – 99,2		98,5	96,5 – 99,5		98,4	97,3 – 99,1	

* Doua (2) probe au fost gasite pozitive cu VIDAS CDAB si negative cu testul celular de citotoxicitate si cu comercialul EIA.

** Paisprezece (14) probe au fost gasite negative cu VIDAS CDAB si pozitive cu testul celular de citotoxicitate, din care 10 au fost negative si 4 pozitive cu comercialul EIA.

*** 4,2 % probe au fost echivoce cu VIDAS CDAB si nu au fost luate in considerare pentru sensibilitate, specificitate si calculatii NPV si PPV.

Test VIDAS C. difficile Toxin A & B comparat cu Commercial EIA

		Sit 1			Sit 2			Toate situurile		
		Commercial EIA			Commercial EIA			Commercial EIA		
		Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total
VIDAS	Pozitiv	67	3	70	37	1	38	104	4*	108
	Echivoc	7	19	26	2	14	16	9	33	42***
	Negativ	18	509	527	6	328	334	24**	837	861
Total		92	531	623	45	343	388	137	874	1011
Performanta		Valoare (%)	95% interval de siguranta		Valoare (%)	95% interval de siguranta		Valoare (%)	95% interval de siguranta	
Positive agreement		78,8	68,6 - 86,9		86,0	72,1 - 94,7		81,3	73,4 - 87,6	
Negative agreement		99,4	98,3 - 99,9		99,7	98,3 - 99,9		99,5	98,8 - 99,9	
Global agreement		96,5	94,7 - 97,8		98,1	96,2 - 99,2		97,1	95,9 - 98,1	

*Patru (4) probe au fost pozitive cu VIDAS CDAB si negative cu comercialul EIA, din care 2 au fost pozitive si 2 negative cu testul celular de citotoxicitate.

**Douazeci si patru (24) probe au fost negative cu VIDAS CDAB si pozitive cu comercialul EIA, din care 20 au fost negative si 4 pozitive cu testul celular de citotoxicitate.

*** 4,2 % probe au fost echivoce cu VIDAS CDAB si nu au fost luate in considerare pentru calcule pozitive, negative si intelegeri globale.

INDEPARTAREA DESEURILOR

Indepartati reactivii folositi si nefolositi precum si orice alte materiale de unica folosinta contaminate respectand procedurile pentru produse infectioase sau potential infectioase.

Este responsabilitatea fiecarui laborator de a manipula deseurile si scurgerile produse conform tipului si gradului de pericolozitate al acestora si de a le trata si indeparta (sau de a angaja pe cineva care sa le trateze sau sa le indeparteze) in conformitate cu orice reglementari aplicabile.

BIBLIOGRAFIE

- BARTLETT, J.G., et al. 1978. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing Clostridia. New England Journal of Medicine. 298:531-534.
- LYERLY, D., et al. 1988. *Clostridium difficile*: Its Diseases and Toxins. Clin. Micro. Reviews. 1:1-18.
- BARBUT F., et al. 2001, Epidemiology of *Clostridium Difficile*-associated infections. Clin. Microbiol. and Infect., 7 (8), 405 – 410.
- GEORGE, W.L., et al. 1982. *Clostridium difficile* and its cytotoxin in feces of patients with antimicrobial agent associated diarrhea and miscellaneous conditions. J. Clin. Micro. 15:1049-1053.
- CUDMORE, M.A., et al. 1982. *Clostridium difficile* colitis associated with cancer chemotherapy. Arch. Intern. Med. 142:333-335.
- DELMEE, M.B., et al. 1987. Epidemiology and prevention of *Clostridium difficile* infections in a leukemia unit. Eur. J. Clin. Microbiol. 6:623-627.
- GERDING, D.N. 1989. Disease associated with *Clostridium difficile* infection. Ann. Intern. Med. 110:255-257.
- COOPERSTOCK, M. 1988. *Clostridium difficile* in infants and children. In Rolfe, R.D. and S.M. Finegold (eds.) *Clostridium difficile*: Its Role in Intestinal Disease. Academic Press, Inc. San Diego, CA. 45-64.
- PEACH, S.L., et al. 1986. Asymptomatic carriage of *Clostridium difficile* in patients with cystic fibrosis. J. Clin. Pathol. 39:1013-1018.
- PETERSON, L.R., et al. 1989. Laboratory methods for the diagnosis of *C. difficile*-related gastrointestinal disease. Lab. Management. 42-45.
- BRAZIER J.S. et al. 2000, Microbiology, Epidemiology, and Diagnosis of *Clostridium Difficile* Infection. Curr. Top. Microbiol. Immunol., 250, 1 – 33.
- PITUCH H. et al., 2001, Clonal dissemination of a toxin-A-negative / toxin-B-positive *Clostridium Difficile* strain from patients with antibiotic-associated diarrhea in Poland. Clin. Microbiol. and Infect., 7 (8), 442 – 446.
- WILCOX M.H. and EASTWOOD K.A. , Evaluation Report: *Clostridium difficile* toxin detection assays, CEP08054, NHS, February 2009, 36 p.
- LAMPE, A.S., et al. 1988. Wearing gloves as cause of false negative HIV tests. Lancet ii 1140-1141.
- BARBUT F, et al. 2003. A European survey of diagnostic methods and testing protocols for *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect, vol 9 : 989-996.
- ALFA J, et al. 1998. Survey of incidence of *Clostridium difficile* in Canadian hospitals and diagnostic approaches. JCM ; vol 26, n°7 : 2076-2080.
- SIMOR AE et al. 2002. *Clostridium difficile* in long-term-care facilities for elderly. Infection Control and Hospital Epidemiology ; vol 23, n°11 : 696-703.

SIMBOLURI

Simbol	Semnificatie
	Numar de catalog
	Dispozitiv Medical pentru Diagnosticare in vitro
	Producator
	Limitare de temperatura
	A se utiliza de catre
	Cod lot
	Consultati instructiunile de utilizare
	Continut suficient pentru <n> teste
	Data de fabricație

GARANȚIE LIMITATĂ

bioMérieux garantează performanța produsului pentru destinația de utilizare menționată cu condiția ca toate procedurile referitoare la utilizare, depozitare și manipulare, durată de depozitare (dacă este cazul) și măsuri de precauție să fie urmate cu strictețe, conform descrierii din Instrucțiunile de utilizare.

Cu excepția celor expres menționate mai sus, bioMérieux declină prin prezenta orice garanții, incluzând orice garanții implicite de vandabilitate și compatibilitate pentru un anumit scop sau o anumită utilizare, și declină orice responsabilitate directă, indirectă sau pe cale de consecință, pentru orice utilizare a reactivului, aplicației software, a instrumentului și consumabilelor („Sistemul”) diferită de cea exprimată în Instrucțiunile de utilizare.

ISTORICUL REVIZIEITipul de schimbare al categoriilor

N/A	Neaplicabil (Prima publicare)
Corectura	Corectia anomaliilor de documentare
Modificari tehnice	Completari, revizii si/sau indepartarea de informatii legate de produs
Administrativ	Implementarea de schimbari non-tehnice care pot fi observate de catre utilizator
Nota:	<i>Modificarile minore de tipar, gramaticale sau de format nu sunt incluse in istoricul reviziei.</i>

Data lansarii	Numar de catalog	Tipul modificarii	Sumarul modificarii
2015/01	11733H	Administrativa	SIMBOLURI ISTORICUL REVIZIEI
		Tehnica	CONTINUTUL KITULUI (60 TESTE) ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE
2015/06	11733I	Tehnica	CONTINUTUL KITULUI (60 TESTE) INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE
2018/05	11733J	Administrativa	GARANȚIE LIMITATĂ

BIOMERIEUX, logo-ul BIOMERIEUX, SPR, și VIDAS sunt mărci comerciale utilizate, înregistrate și/sau în curs de înregistrare, care aparțin bioMérieux sau uneia dintre filialele sau companiile sale.

CLSI este marca comerciala înregistrata aparținand Clinical and Laboratory Standards Institute Inc.

Orice alta denumire sau marca comerciala apartine proprietarului respectiv.