

**VIDAS® C. difficile Toxin A & B (CDAB)****Destinația utilizării**

Testul VIDAS® C. difficile Toxin A & B (CDAB) este un test automat care se utilizează cu gama de aparate VIDAS® pentru detectarea calitativă a toxinei A și a toxinei B *Clostridium difficile* în probele de scaun utilizând tehnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay – Analiza reacțiilor enzimatică în fluorescență). Testul VIDAS® C. difficile toxin A & toxin B (CDAB) asistă la diagnosticarea clinică a afecțiunilor asociate cu *Clostridium difficile* (CDAD).

**Sumar și explicație**

Flora bacteriană normală din intestin asigură o barieră ecologică împotriva colonizării semnificative cu microorganisme patogene; întreruperea protecției prin utilizarea de antibiotice poate permite înmulțirea excesivă a patogenilor endogeni sau din sursă nosocomială, precum *Clostridium difficile*.

*C. difficile* a fost identificat drept agentul etiologic major al colitei pseudomembranoase asociate tratamentului cu antibiotice PMC. PMC este un sindrom definit clinic, asociat cu un istoric recent de utilizare a antibioticelor, în cadrul căruia se formează noduli sau plăci pseudomembranoase pe colonul distal sau sigmoid și pe rect.<sup>1,2,3</sup> Dacă este nedagnosticată sau netratată, afecțiunea poate fi fatală. *C. difficile* a fost, de asemenea, implicată în colita asociată tratamentului cu antibiotice (AAC) și în diareea asociată tratamentului cu antibiotice (AAD).<sup>4</sup>

Dobândirea nosocomială a *C. difficile* este o problemă gravă pentru unele instituții, în special cele cu un număr ridicat de pacienți internați, secții de chimioterapie sau îngrijire pe termen lung a pacienților.<sup>5,6,7</sup> De asemenea, s-a dovedit că pacienții cu fibroză chistică (CF) și copiii mici sunt purtători asimptomatici de *C. difficile* toxigenic, având rate de colonizare de până la 50% în rândul copiilor mici și de până la 32% în rândul pacienților CF.<sup>8,9</sup>

Diagnosticarea clinică a afecțiunilor asociate cu *C. difficile* (CDAD) se face utilizând un număr de criterii, care, de regulă, includ următoarele: pacient care produce cel puțin 6 scaune neformate într-un interval de 36 de ore, căruia i-a fost administrat tratament cu antibiotice în interval de 8 săptămâni de la începerea diareei, fără nicio altă cauză evidentă de diaree și cu răspuns adecvat la terapie.<sup>10</sup>

*C. difficile* poate fi toxigenică sau non-toxigenică. Tulpinile toxigenice de *C. difficile* produc o enterotoxină (toxina A), precum și o citotoxină (toxina B) în cantități aproximativ echivalente.<sup>2,11</sup>

Cu toate acestea, anumite tulpini (serogrupul F) produc toxina B, dar nu și toxina A.<sup>12</sup> Este posibil ca aceste tulpini să fie subdiagnosticate din cauza utilizării frecvente a metodelor de diagnosticare care detectează numai toxina A.<sup>2,11</sup>

VIDAS® C. difficile Toxin A & B se utilizează în asistarea diagnosticării afecțiunilor asociate cu *Clostridium difficile*. Aceasta permite detectarea toxinei A și a toxinei B de *C. difficile* în probele de scaun.<sup>13</sup>

**Principiu**

Principiul testului combină o metodă de tip sandwich de analiză imunologică enzimatică în două etape, cu detecția finală în fluorescență (ELFA).

Receptaculul de fază solidă (SPR) de unică folosință servește atât drept fază solidă, cât și drept dispozitiv de pipetare. Reactivii pentru analiză sunt gata de utilizare și predistribuiți în stripurile de reactivi sigilate, de unică folosință.

Toți pașii analizei sunt efectuați în mod automat de către aparat. Mediul de reacție este circulat în interiorul și în exteriorul dispozitivului SPR de mai multe ori. Fiecare etapă este urmată de un ciclu de spălare, care elimină componentele nelegate:

- Legarea specifică a toxinei A și/sau B prezentă în probă cu anticorpii anti-toxinei A (policlonali de iepure) și cu anticorpii anti-toxinei B (monoclonali de șoarece) care câptușesc interiorul dispozitivului SPR.
- Legătura dintre toxina A și anticorpii anti-toxinei A (șoarece) conjugată cu biotină și legătura dintre toxina B și anticorpii anti-toxinei B (șoarece) conjugată cu biotină.
- Prezența biotinei se detectează prin incubare cu streptavidină conjugată cu fosfatază alcalină.

- Detectare: fosfataza alcalină catalizează hidroliza substratului (4-metil-umbeliferil fosfat) într-un produs fluorescent (4-metil-umbeliferonă), a cărei fluorescență este măsurată la 450 nm.

Intensitatea fluorescenței crește proporțional cu cantitatea de toxina A și/sau toxina B din probă.

La finalul testului VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B, aparatul analizează automat rezultatele, generează o valoare de test și imprimă un rezultat pentru fiecare probă.

## Conținutul kitului (60 de teste)

60 de stripuri CDAB <sup>(a)</sup>	STR	Gata de utilizare.
60 de receptacule de fază solidă CDAB 2 x 30	SPR	Gata de utilizare. Anticorpi cu anti-toxina A <i>C. difficile</i> policlonali de iepure și anticorpi cu anti-toxina B monoclonali de șoarece.
Standard CDAB <sup>(b)</sup> 1 x 4 ml (lichid)	S1	Diluție de toxina A recombinantă din <i>C. difficile</i> în soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanți.
Toxină A de control pozitiv CDAB <sup>(b)</sup> 1 x 4 ml (lichid)	C1	Diluție de toxina A recombinantă din <i>C. difficile</i> în soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanți. Datele MLE indică Test Value (TV) range: Control C1 (+) Test Value Range.
Control negativ CDAB <sup>(b)</sup> 1 x 4 ml (lichid)	C2	Soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanți. Datele MLE indică Test Value (TV) range: Control C2 (-) Test Value Range.
Toxină B de control pozitiv CDAB <sup>(b)</sup> 1 x 4 ml (lichid)	C3	Diluție de toxina B recombinantă din <i>C. difficile</i> în soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + BSA 5% + conservanți. Datele MLE indică Test Value (TV) range: Control C3 (+) Test Value Range.
Diluant 1 x 61 ml (lichid)	R1	Gata de utilizare. Soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + ser de vițel fetal 50% + detergent + conservanți.
Specificații pentru datele master de calibrare din fabrică necesare pentru a calibra testul: un cod de bare MLE (Master Lot Entry - introducere lot etalon), tipărit pe eticheta cutiei.		
1 insert tehnic, care poate fi descărcat de pe <a href="http://www.biomerieux.com/techlib">www.biomerieux.com/techlib</a>		



(a) **PERICOL**

**ATENȚIE**



EUH208 / H317 / H318 / P261 / P280 / P302 + P352 / P305 + P351 + P338



(b) **ATENȚIE**

EUH208 / H317 / P261 / P280 / P302 + P352

### Fraze de pericol

- H317: Poate provoca o reacție alergică a pielii.
- EUH208: Conține 2-metil-2H-izotiazolin-3-onă. Poate produce o reacție alergică.
- H318: Provoacă leziuni oculare grave.

### Fraze 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.
- P261: Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul.
- P302 + P352: ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: spălați cu multă apă și săpun.

Pentru mai multe informații, consultați Fișa Tehnică de Securitate.

**Dispozitivul SPR**

Interiorul dispozitivului SPR este căpтуșit în timpul producției cu anticorpi ai toxinei A și ai toxinei B de *C. difficile*. Fiecare dispozitiv SPR este identificat prin codul CDAB.

Scoateți din pungă doar numărul necesar de dispozitive SPR și resigilați punga cu atenție după deschidere.

**Stripul cu reactivi**

Stripul este format din 10 godeuri acoperite cu folie sigilatoare etichetată. Eticheta conține un cod de bare care indică în principal codul analizei, numărul de lot al titului și data de expirare. Folia primului godeu este perforată pentru a facilita introducerea probei. Ultimul godeu al fiecărui strip este o cuvetă în care se realizează citirea fluorimetrică. Godeurile din secțiunea centrală a stripului conțin diferiți reactivi necesari pentru efectuarea analizei.

**Descrierea stripului CDAB**

Stripul conține dietanolamină și azidă de sodiu. Consultați frazele de pericol „H” și frazele de precauție „P” indicate mai sus.<sup>(a)</sup>

Godeu	Reactivi
1	Godeul probei.
2 - 3 - 4	Soluție de spălare: Soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + detergent + conservanți (600 μl).
5	Conjugat: Anticorp monoclonal de șoarece al anti-toxinei A <i>C. difficile</i> conjugat cu biotină și anticorp monoclonal de șoarece al anti-toxinei B <i>C. difficile</i> conjugat cu biotină + conservanți (400 μl).
6	Substanță de urmărire: Streptavidină etichetată cu fosfatază alcalină + soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 6,0) + conservanți (400 μl).
7 - 8 - 9	Soluție de spălare: Soluție salină tamponată TRIS 0,05 mol/l (pH 7,2) + detergent + conservanți (600 μl).
10	Cuvetă de citire cu substrat: 4-metil-umbeliferil-fosfat (0,6 mmoli/l) + dietanolamină (DEA) (0,62 moli/l sau 6,6%, pH 9,2) + 1 g/l azidă de sodiu (300 μl).

**Materiale și consumabile necesare, dar nefurnizate**

- Pipetă cu vârf de unică folosință pentru distribuirea a 300 μl, 200 μl și 1.000 μl.
- Mănuși de unică folosință, fără pudră.
- Capacitate centrifugă ≥ 12.000 g.
- Eprubete pentru centrifugă, din polipropilenă sau alt material adecvat, destinate diluării și centrifugării probelor (capacitate de cel puțin 1,5 ml).
- Pipete de transfer probe, utilizate la măsurarea cantității adecvate de probă de scaun, în vederea procesării.
- Bețișor sau buclă de aplicare.
- Pentru alte materiale și consumabile de unică folosință specifice, vă rugăm să consultați Manualul de utilizare al aparatului.
- Aparat din gama VIDAS®.

**Atenționări și măsuri de precauție**

- **Destinat numai diagnosticării *in vitro*.**
- **A se utiliza numai de către personal calificat.**
- Kitul conține produse de origine animală. Cunoașterea certificată a originii și/sau a stării sanitare a animalelor nu garantează în totalitate absența agenților patogeni transmisibili. De aceea, se recomandă ca aceste produse să fie tratate ca fiind potențial infecțioase și manipulate respectând măsurile de precauție obișnuite (a nu se ingera; a nu se inhala).
- Reactivii din kit conțin azidă de sodiu, care poate reacționa cu plumbul sau cuprul din instalații, formând azide metalice explozive. Dacă vreun lichid conținând azidă de sodiu este aruncat în sistemul instalațiilor sanitare, scurgerile trebuie clătite cu apă din abundență, pentru a evita acumulările.
- Nu utilizați reactivii după data de expirare indicată pe eticheta cutiei.
- Nu amestecați reactivi (sau materiale de unică folosință) din loturi diferite.
- Nu utilizați dispozitivele SPR dacă săculețul este perforat sau dacă punctul care sigilează dispozitivul SPR este dezlipit.

- Nu utilizați stripurile vizibil deteriorate (folie sau plastic deteriorat).
- Utilizați mănuși fără pudră, deoarece s-a raportat faptul că pudra induce rezultate false în cazul anumitor teste imunologice enzimatiche.<sup>14</sup>
- Utilizați pipete calibrate pentru a procesa standardul și controalele pozitive și negative.
- Nu utilizați alte materiale de diluare a probelor în afară de diluantul de probe VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B pentru testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.
- Consultați frazele de pericol „H” și frazele de precauție „P” indicate mai sus.
- Picăturile scurse trebuie șterse în totalitate după tratament, cu detergent lichid sau cu o soluție de înălbitor casnic conținând cel puțin 0,5% hipoclorit de sodiu. Consultați Manualul de utilizare pentru modul de curățare a lichidelor vărsate pe sau în aparat. Nu autoclavați soluții ce conțin înălbitor.
- Aparatele trebuie curățate și decontaminate cu regularitate (consultați Manualul de utilizare, pentru operațiuni de întreținere efectuate de utilizator și operațiuni de întreținere preventivă).

## Condiții de păstrare

- Păstrați kitul la +2 °C/+8 °C.
- **Nu congelați reactivii.**
- **Păstrați toți reactivii neutilizați la +2 °C/+8 °C.**
- După deschiderea kitului, verificați ca punga SPR să fie sigilată în mod corect și nedeteriorată. În caz contrar, nu utilizați dispozitivele SPR.
- **După utilizare, resigilați cu atenție săculețul, cu desicantul în interior, pentru a menține stabilitatea dispozitivelor SPR, și depozitați din nou întregul kit la temperaturi între +2 °C și +8 °C.**
- Dacă se respectă condițiile recomandate pentru depozitare, toate componentele sunt stabile până la data expirării indicată pe eticheta cutiei.

## Probe

### Tipul, colectarea și stocarea probelor

Probele de scaun trebuie colectate conform procedurilor standard ale laboratorului și stocate la +2 °C/+8 °C până la procesare.

Transportați probele în laborator cât mai curând posibil după primirea acestora.

Probele de scaun pot fi păstrate până la 3 zile (de la momentul colectării) la +2 °C/+8 °C înainte de a fi procesate, fără pierderi mari de *C. difficile* Toxin A & B detectabile. Nu se recomandă păstrarea la +2 °C/+8 °C pe o perioadă mai lungă de timp. Probele pot fi stocate congelate la -31 °C/-19 °C timp de o lună și apoi, încă o lună după aceea, la -70 °C (sau la temperaturi mai joase).

Evitați ciclurile de congelare/decongelare.

Un tampon de recoltare rectală nu va furniza suficientă probă pentru test și, în consecință, este inacceptabil. Evitați recipientele care pot să conțină detergenți, conservanți sau medii; acestea pot să interfereze cu rezultatele de testare ale VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.

### Pregătirea standardului, a controalelor și probelor pentru testul CDAB

#### Specimene

**Important:** Este esențial ca probele de scaun să fie bine amestecate înainte de a începe procesarea acestora. Lipsa omogenității dintr-o probă de scaun poate duce la rezultate incorecte. Amestecarea temeinică a probelor de scaun este esențială pentru a evita această problemă. Proba diluată trebuie să fie omogenă după amestecare. Aceasta va ajuta la asigurarea validității rezultatelor.

#### Scaune lichide:

1. Omogenizați extrăgând și introducând la loc proba de scaun din/în pipeta de transfer.  
Utilizând aceeași pipetă de transfer, distribuiți 200 μl de scaun lichid într-o eprubetă curată de centrifugă.
2. Folosind o pipetă cu vârf de unică folosință, adăugați 1.000 μl de diluant pentru probă (R1) în eprubetă centrifugei.
3. Omogenizați din nou extrăgând și introducând la loc proba de scaun din/în pipeta de transfer.  
Apoi, amestecați folosind un mixer de tip vortex, până când se obține un mediu omogen.  
Este esențial ca toate porțiunile probei să fie amestecate uniform cu diluantul pentru probă (R1).
4. Centrifugați timp de 5 minute la +2 °C/+25 °C la o accelerație de minimum 12.000 g.
5. Folosind o pipetă cu vârf de unică folosință, colectați 300 μl de supernatant pentru a efectua testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.

**Observație:** Dacă la suprafața supernatantului rămân particule în suspensie sau lipide după centrifugare, colectați proba dedesubtul stratului de suprafață.

**Scaune semi-solide și solide:**

1. Pentru a asigura transferul precis a 200 mg de scaun semi-solid sau solid, distribuiți 200 µl de apă distilată într-o eprubetă de centrifugă curată, folosind o pipetă cu vârf de unică folosință; această eprubetă se va utiliza ca „eprubetă calibrată”.
2. **Omogenizați viguros** proba de scaun utilizând un bețișor de aplicare din lemn.
3. Transferați o cantitate de scaun (200 mg) echivalentă cu volumul din eprubeta calibrată într-o eprubetă de centrifugă nouă și curată, identificată ca eprubeta de probă (consultați în continuare). Depuneți proba de scaun la baza eprubetei de centrifugă, astfel încât cantitatea de scaun să fie echivalentă cu volumul de apă din eprubeta calibrată (200 µl).



**Observație:** Eliminați eprubeta calibrată după transferarea fiecărei probe de scaun solid și semi-solid.

4. Adăugați 1.000 µl de diluant pentru probă (R1) în eprubeta de probă, folosind o pipetă cu vârf de unică folosință.
5. Emulsionați proba de scaun utilizând bețișorul de aplicare, apoi amestecați cu un mixer de tip vortex, până când proba are un aspect omogen. Este esențial ca toate porțiunile probei să fie amestecate uniform cu diluantul pentru probă (R1).
6. Centrifugați timp de 5 minute la +2 °C/+25 °C la o accelerație de minimum 12.000 g.
7. Folosind o pipetă cu vârf de unică folosință, colectați 300 µl de supernatant pentru a efectua testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.

**Observație:**

- Dacă la suprafața supernatantului rămân particule în suspensie sau lipide după centrifugare, colectați proba dedesubtul stratului de suprafață;
- În cazul în care scaunele semi-solide conțin mai multă materie lichidă decât solidă, procedura de pregătire a probei poate fi efectuată folosind instrucțiunile furnizate pentru scaunele lichide (consultați secțiunea „Probe: Scaune lichide”).

**Standard și controale**

**Standardul și controalele pozitive și negative trebuie procesate în același mod ca probele pacienților.**

1. Amestecați-le temeinic utilizând un mixer de tip vortex.
2. Colectați 200 µl de standard și controale folosind o pipetă cu vârf de unică folosință și distribuiți într-o eprubetă de centrifugă curată.
3. Adăugați 1.000 µl de diluant pentru probă (R1) în eprubeta de centrifugă, folosind o pipetă cu vârf de unică folosință.
4. Amestecați-le utilizând un mixer de tip vortex.
5. Folosind o pipetă cu vârf de unică folosință, colectați 300 µl de supernatant pentru a efectua testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.

**Stocarea probelor procesate**

Supernatanții probelor procesate, standardul și controalele pot fi stocate până la 48 de ore la +2 °C/+8 °C înainte de a fi testate cu VIDAS® CDAB.

**După 48 de ore, supernatanții, standardul și controalele trebuie eliminate la deșeuri.**

**Instrucțiuni de utilizare**

Pentru instrucțiuni complete, consultați Manualul de utilizare al aparatului.

Citirea datelor protocolului VIDAS® PTC (schimbare protocol de testare) și datelor MLE

**Atunci când utilizați analiza pentru prima dată**

Cu ajutorul cititorului extern de coduri de bare al aparatului, **scațați codurile de bare (PTC și MLE) în ordinea următoare:**

1. În funcție de aparatul utilizat, scațați codurile de bare PTC care pot fi descărcate de la [www.biomerieux.com/techlib](http://www.biomerieux.com/techlib). Această citire va permite transferul datelor protocolului VIDAS® PTC către software-ul aparatului, pentru actualizarea acestuia.
2. Scațați datele MLE de pe eticheta cutiei.

**Observație:** În cazul în care datele MLE au fost citite înaintea protocolului VIDAS® PTC, citiți datele MLE din nou.

**Când deschideți un nou lot de reactivi**

Cu ajutorul cititorului extern de coduri de bare al aparatului, scațați datele MLE de pe eticheta cutiei înainte de pornirea testului.

Dacă această operație nu este efectuată **înainte de începerea testelor**, aparatul nu va putea imprima rezultatele.

**Observație:** Datele lotului master se introduc doar o singură dată pentru fiecare lot.

Puteți introduce datele MLE **manual sau în mod automat**, în funcție de aparat (consultați Manualul de utilizare).

**Calibrare**

Utilizând standardul furnizat în kit, calibrarea trebuie efectuată de fiecare dată când deschideți un nou lot de reactivi, după introducerea datelor lotului MLE, apoi la fiecare 14 zile.

Această operație furnizează curbe de calibrare specifice aparatului și compensează posibilele variații minore în semnalul analizei pe durata perioadei de valabilitate a kitului.

Standardul identificat prin S1 trebuie testat în duplicat.

Valoarea standard trebuie să se încadreze în intervalul RFV (Relative Fluorescence Value - Valoarea fluorescenței relative) stabilit, indicat de datele MLE. Dacă acest lucru nu se întâmplă, recalibrați.

**Procedura**

1. **Scoateți din frigider doar reactivii necesari.**
2. Utilizați un strip „CDAB” și un dispozitiv SPR „CDAB” pentru fiecare probă, control sau calibrator care urmează a fi testat. **Asigurați-vă că săculețul SPR a fost resigilat cu grijă după ce dispozitivele SPR necesare au fost scoase.**
3. Testul este identificat prin codul „CDAB” de pe aparat. Standardul identificat prin S1 trebuie testat în duplicat. Dacă urmează să fie testate controalele pozitive, acestea trebuie identificate prin „C1” și „C3”. În cazul în care trebuie testat controlul negativ, acesta ar trebui identificat prin „C2”.
4. **Pentru acest test, cantitatea de standard, supernatant de probă procesată și de controale procesate pentru testare este de 300 µl.**
5. Introduceți dispozitivele SPR „CDAB” și stripurile „CDAB” în aparat. Verificați și asigurați-vă de faptul că etichetele colorate conținând codul analizei de pe dispozitivele SPR se potrivesc cu foliile termosudate ale reactivilor.
6. Începeți analiza conform instrucțiunilor din Manualul de utilizare. Toate etapele analizei sunt realizate în mod automat de către aparat.
7. Analiza va fi finalizată în aproximativ 75 de minute. La finalizarea analizei, scoateți dispozitivele SPR și foliile termosudate din aparat.
8. Eliminați dispozitivele SPR și stripurile folosite într-un recipient corespunzător.

**Rezultatele și interpretarea**

Fluorescența este măsurată de două ori în cuveta de citire a stripului cu reactivi, pentru fiecare probă testată. Prima citire este o citire de fundal a cuvetei substratului, înainte ca dispozitivul SPR să fie introdus în substrat.

A doua citire este realizată după incubarea substratului cu enzima legată de interiorul dispozitivului SPR.

RFV (Valoarea relativă a fluorescenței) este calculată prin scăderea citirii de fundal din rezultatul final. Acest calcul apare pe fișa cu rezultate.

Valoarea testului este calculată de aparat pentru fiecare probă, după cum urmează:

Valoarea testului = RFV pacient/RFV standard

Valoarea testului și interpretarea sunt, de asemenea, indicate pe fișa de rezultate. Interpretarea rezultatelor în funcție de valoarea testului este după cum urmează:

Valoarea de testare	Rezultat
< 0,13	Negativ
≥ 0,13 până la < 0,37	Echivoc
≥ 0,37	Pozitiv

În caz de rezultate echivoce din cauza eterogenității distribuției toxinei în anumite probe, se recomandă să repetați testul utilizând aceeași probă inițială sau o probă proaspătă. Proba trebuie colectată în termen de două săptămâni, ținând cont de simptomele clinice și de anamneza pacientului. Dacă rezultatul este în continuare echivoc, testați proba utilizând o altă metodă.

Rezultatele nevalide se observă atunci când citirea de fundal pentru stripul de testare a probei este deasupra valorii limită prestabilite, indicând o contaminare a substratului de nivel inferior. În cazul probelor cu rezultate nevalide, repetați testarea utilizând proba procesată inițial dacă este posibil sau utilizând o probă proaspătă.

Rezultatele testului trebuie interpretate luând în considerare istoricul medical al pacientului și rezultatele oricăror alte teste efectuate.

## Controlul de calitate

În fiecare kit VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B, sunt incluse două controale pozitive și un control negativ. Aceste controale trebuie efectuate imediat după deschiderea unui nou kit, pentru a vă asigura de faptul că performanța reactivilor nu a fost modificată. Fiecare calibrare trebuie, de asemenea, verificată utilizând aceste controale. Testați controalele conform îndrumărilor de reglementare ale laboratorului. Controalele trebuie procesate la fel ca și probele pacienților și pipetate direct în godeurile de probă ale stripurilor de reactiv VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.

Aparatul va putea verifica valorile de control numai dacă acestea sunt identificate prin C1, C2 și C3.

Rezultatele nu pot fi validate dacă valorile controalelor deviază de la valorile așteptate.

**Observație:** Este responsabilitatea utilizatorului de a efectua Controlul calității în conformitate cu orice reglementări locale aplicabile.

## Limitările metodei

- Nu utilizați alte materiale de diluare a probelor în afară de diluantul de probe VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B pentru testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.
- Meconiul poate să interfereze cu testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B – nu testați probe de la copii, decât dacă aceștia au cel puțin doi ani.
- Nu au fost evaluate în mod temeinic probele de scaun care par a avea cantități mari de grăsime. Evitați eșantionarea acestui material în VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B.
- Din cauza eterogenității probei, amestecarea temeinică a probelor de scaun este esențială pentru a evita rezultatele discrepante. Probele care furnizează rezultate contradictorii cu informațiile clinice disponibile trebuie retestate utilizând o probă proaspătă.
- Nivelurile de toxină pot să varieze de la o probă la alta a pacientului.
- Un rezultat VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B de sine stătător negativ nu exclude posibilitatea colitei sau diareii asociate cu *C. difficile*. Poate fi rezultatul unei prelevări, manipulări sau depozitări necorespunzătoare a probei. Evaluați întotdeauna rezultatele testului VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B concomitent cu simptomele clinice și anamneza pacientului atunci când diagnosticați afecțiunile asociate cu *C. difficile*.
- Un rezultat de test VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B de sine stătător pozitiv nu trebuie utilizat pentru a diagnostica o colită sau o diaree asociată cu *C. difficile*. Rezultatele testului VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B trebuie evaluate întotdeauna concomitent cu simptomele clinice și anamneza pacientului când diagnosticați afecțiunile asociate cu *C. difficile*.

## Datele epidemiologice

În cadrul unui studiu european efectuat de ESGCD (Grupul european de studiu pe *Clostridium difficile*), frecvența medie a scaunelor cu rezultate pozitive în privința toxinelor, colectate din 136 de spitale a fost de 9,5%.<sup>15</sup>

În America de Nord, în cadrul unui studiu canadian care cuprinde 380 de spitale, ratele medii de pozitivitate a testului au variat de la 13,2% până la 17,2%, în funcție de capacitatea spitalelor (de la < 300 până la > 500 de paturi), cu o incidență medie (a afecțiunilor asociate cu *Clostridium difficile*) între 23,5 și 40,3 de cazuri per 100.000 de zile de spitalizare.<sup>16</sup> În

documentul de poziție al SHEA (Societatea Americană de epidemiologie), rata raportată a fost între 17 și 60 de cazuri per 100.000 de zile de spitalizare.<sup>17</sup>

## Performanța

### Precizie

S-a efectuat un studiu de precizie în 3 locații, utilizând 6 surse de probe: 2 negative, 1 echivocă, 3 pozitive (slab pozitiv, mediu și înalt pozitiv).

Fiecare probă a fost testată în duplicat, în 2 cicluri separate pe zi, cu 2 loturi de reactiv în fiecare dintre cele 3 centre. Fiecare lot a fost testat pe o perioadă de 6 zile (N = 144 per probă).

Precizia în cadrul ciclului de testare (precizia intra-ciclu de testare), precizia între teste (precizia între rulări, între zile, între loturi și între centre) și precizia totală au fost calculate în baza recomandărilor CLSI® EP5-A2.

Rezultatele sunt indicate în tabelul de mai jos:

**Tabel 1. Precizia testului VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B**

Probă	Valoare de testare Medie	Precizie intra-test		Precizie inter-teste		Precizie totală	
		Deviația standard	CV (%)	Deviația standard	CV (%)	Deviația 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
Pozitiv mediu	1,340	0,0446	3,3	0,1105	8,2	0,1192	8,9
Înalt pozitiv	2,914	0,0831	2,9	0,1987	6,8	0,2153	7,4

### Reactivitate încrucișată și interferențe

Pentru a testa reactivitatea încrucișată, fiecare microorganism a fost diluat în control negativ de VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B, procesat ca o probă a pacientului și testat în unicat cu testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B. Pentru a testa interferența, fiecare microorganism a fost diluat în controalele pozitive, procesat ca o probă a pacientului și testat în unicat cu testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B. Microorganismele au fost testate la o concentrație de  $1,10^7$  CFU/ml (0,033 McFarland), cu excepția *C. sordelli*, care a fost testat la  $3,10^8$  CFU/ml (1 McFarland).

Tabelul următor enumeră microorganismele care au fost testate și pentru care s-a confirmat că nu există nicio reactivitate încrucișată sau nicio interferență cu testul 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 0157:H7</i>
<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-toxigenică) 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>

\* În funcție de condițiile de cultivare, nu s-a observat nicio reactivitate cu *C. sordelli* VPI9048.

În cadrul studiilor clinice, nu s-a observat nicio interferență cu probele de scaun care păreau să conțină un volum ridicat de mucus sau sânge.

Testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B a fost evaluat utilizând mai multe tulpini de *C. difficile*. Tulpinile au fost dezvoltate în bulion cu peptonă de leaură și testate din punct de vedere al reactivității cu testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B. Rezultatele rezumate mai jos indică faptul că VIDAS® CDAB a identificat tulpinile toxigenice de *C. difficile*, chiar și pe cele care produc numai toxina B.

Tipuri de <i>C. difficile</i>	% de rezultate VIDAS® CDAB pozitive/numărul total de tulpini
A+/B+	100% (23/23)
A-/B+	83% (15/18*)

\* Trei tulpini (3) A-/B+ au indicat rezultate echivoce cu VIDAS® CDAB.

#### Limita de detecție

Limita de detecție a fost evaluată utilizând o gamă de diluții de toxine A și B recombinante de *C. difficile* în soluție tampon de TRIS-albumină bovină.

Testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B va detecta toxina A la un nivel  $\geq 3$  ng/ml și toxina B la un nivel  $\geq 1$  ng/ml.

#### Performanță clinică

Au fost testate 1.011 de probe proaspete de scaun în două centre clinice (S.U.A. și Europa). Fiecare probă a fost testată utilizând testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B pe aparatul VIDAS® și o metodă EIA manuală, disponibilă comercial. Analizarea testelor de citotoxicitate celulară (standardul de bază) pentru fiecare probă a fost centralizată și realizată într-un al treilea centru.

Testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B a fost comparat cu testul de citotoxicitate celulară și cu metoda EIA comercială testată.

**Tabel 2. Testul VIDAS® *C. difficile* Toxin A & B Assay în comparație cu testul de citotoxicitate celulară**

	Centrul 1			Centrul 2			Toate centrele		
	Test de citotoxicitate celulară			Test de citotoxicitate celulară			Test de citotoxicitate celulară		
	Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total	Pozitiv	Negativ	Total

		Centrul 1			Centrul 2			Toate centrele		
		Test de citotoxicitate celulară			Test de citotoxicitate celulară			Test de citotoxicitate celulară		
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	1.011
Performanța		Valoare (%)	Interval de încredere 95%		Valoare (%)	Interval de încredere 95%		Valoare (%)	Interval de încredere 95%	
Sensibilitate		88,3	79,0 – 94,5		88,4	74,9 – 96,1		88,3	81,2 – 93,5	
Specificitatea		99,6	98,6 – 99,9		100,0	98,9 – 100,0		99,8	99,2 – 99,9	
Valoare predictivă pozitivă (VPP)		97,1	90,1 – 99,7		100,0	90,7 – 100,0		98,1	93,5 – 99,8	
Valoare predictivă negativă (NPV)		98,3	96,8 – 99,2		98,5	96,5 – 99,5		98,4	97,3 – 99,1	

\* Două (2) probe au fost depistate pozitive cu VIDAS® CDAB și negative cu testul de citotoxicitate celulară și cu metoda EIA comercială.

\*\* Paisprezece (14) probe au fost depistate negative cu VIDAS® CDAB și pozitive cu testul de citotoxicitate celulară, din care 10 au fost negative și 4 pozitive cu metoda EIA comercială.

\*\*\* 4,2% din probe au fost echivoce cu VIDAS® CDAB și nu au fost luate în considerare la calculele de sensibilitate, specificitate, NPV și PPV.

**Tabel 3. Testul VIDAS® C. difficile Toxin A & B în comparație cu metoda EIA comercială**

		Centrul 1			Centrul 2			Toate centrele		
		Metodă EIA comercială			Metodă EIA comercială			Metodă EIA comercială		
		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	1.011
Performanța		Valoare (%)	Interval de încredere 95%		Valoare (%)	Interval de încredere 95%		Valoare (%)	Interval de încredere 95%	
Acord pozitiv		78,8	68,6 – 86,9		86,0	72,1 – 94,7		81,3	73,4 – 87,6	
Acord negativ		99,4	98,3 – 99,9		99,7	98,3 – 99,9		99,5	98,8 – 99,9	
Acord global		96,5	94,7 – 97,8		98,1	96,2 – 99,2		97,1	95,9 – 98,1	

\* Patru (4) probe au fost depistate pozitive cu VIDAS® CDAB și negative cu metoda EIA comercială, din care 2 au fost pozitive și 2 negative cu testul de citotoxicitate celulară.

\*\* Douăzeci și patru (24) de probe au fost depistate negative cu VIDAS® CDAB și pozitive cu metoda EIA comercială, din care 20 au fost negative și 4 pozitive cu testul de citotoxicitate celulară.

\*\*\* 4,2% din probe au fost echivoce cu VIDAS® CDAB și nu au fost luate în considerare la calculele de concordanță pozitivă, negativă și globală.

## Îndepărtarea deșeurilor

Eliminați reactivii utilizați, precum și orice alte materiale de unică folosință contaminate respectând procedurile pentru produse infecțioase sau potențial infecțioase.








Este responsabilitatea fiecărui laborator de a manipula deșeurile și scurgerile produse conform tipului și gradului de pericolozitate al acestora și de a le trata și elimina (sau de a dispune tratarea și eliminarea acestora) în conformitate cu orice reglementări aplicabile.



Pentru țările din UE, se recomandă ca toate materialele asociate cu testul, inclusiv materialul utilizat pentru colectarea lichidelor vărsate, ambalajele contaminate și/sau testele IVD neutilizate și expirate să fie incinerate.

## 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.

## Index al simbolurilor

Simbol	Semnificație
	Număr de catalog
	Dispozitiv medical pentru diagnosticare <i>In Vitro</i>
	Producător
	Limitare de temperatura
	A se utiliza pana la data de
	Cod lot
	A se consulta instrucțiunile de utilizare

Simbol	Semnificație
	Conținut suficient pentru <n> teste
	Data fabricației

## Garanție limitată

bioMérieux garantează performanța produsului pentru destinația de utilizare menționată cu condiția ca toate procedurile referitoare la utilizare, depozitare și manipulare, durata 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 reviziilor

Categoriile tipurilor de modificări

N/A	Neaplicabil (Prima publicare)
Corectură	Corectarea anomaliilor de documentare
Modificare tehnică	Completări, revizuirii și/sau îndepărtarea de informații legate de produs
Administrativă	Implementarea de schimbări non-tehnice importante pentru utilizator

**Notă:** Modificările minore de tipar, gramaticale sau de format nu sunt incluse în istoricul reviziilor.

Data versiunii	Cod componentă	Tipul modificării	Sumarul modificărilor
2018/05	11733J	Administrativă	Garanție limitată
2019-07	051091-02	Modificare tehnică	Conținutul kitului (60 de teste) Atenționări și măsuri de precauție
2020-11	051091-03	Administrativă	Modificări de formatare și text.
		Modificare tehnică	Îndepărtarea deșeurilor

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 o marcă comercială aparținând Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Oricare altă denumire sau marcă comercială aparține proprietarului respectiv.

REACH/22/28/1

Pentru utilizatorii din Uniunea Europeană (Regulamentul (UE) 2017/746) și din țările cu cerințe similare: În cazul apariției unui incident grav în timpul utilizării acestui dispozitiv sau în urma utilizării acestuia, vă rugăm să raportați acest incident producătorului și/sau reprezentantului autorizat al acestuia, precum și autorității dvs. naționale.