

# SCREEN® Clostridium difficile GDH Test Rapido in Cassetta (Feci)

## Istruzioni per l'uso

REF ICD-602	Italiano
-------------	----------

Test diagnostico rapido in vitro per l'individuazione dell'antigene GDH di Clostridium difficile in campioni di feci umane.

Per uso in vitro. Solo per uso professionale.

### USO PREVISTO

Il Clostridium difficile GDH Test Rapido in Cassetta è un test immunocromatografico rapido per la determinazione qualitativa dell'antigene GDH di Clostridium difficile in campioni di feci umane.

### SOMMARIO

Il Clostridium difficile è un batterio anaerobico che agisce come agente patogeno opportunistico: cresce nell'intestino quando la flora normale è stata alterata dal trattamento con antibiotici.<sup>1,2,3</sup> I ceppi tossinogenici di Clostridium difficile causano infezioni da lieve diarrea a colite pseudomembranosa, portando potenzialmente alla morte.<sup>4</sup>

La malattia è causata da due tossine prodotte da ceppi tossinogenici di C. difficile: tossina A (enterotossina dannosa per i tessuti) e tossina B (citotossina). Alcuni ceppi producono entrambe le tossine A e B, altri producono solo la tossina B. Il ruolo potenziale di una terza tossina (binaria) nella patogenicità è ancora dibattuto.<sup>4</sup>

L'uso della glutammato deidrogenasi (GDH) come marcatore antigenico della proliferazione del C. difficile ha dimostrato di essere molto efficace perché tutti i ceppi producono quantità elevate di questo enzima.<sup>5,6</sup>

Il Clostridium difficile GDH Test Rapido in Cassetta consente la rilevazione specifica del GDH di C. difficile nelle feci. I campioni con un risultato positivo dovrebbero essere esaminati ulteriormente per verificare la tossigenicità dei batteri.

### PRINCIPIO

Questo è un test pronto all'uso basato sull'uso di una tecnologia a membrana con oro colloidale. Una membrana di nitrocellulosa viene sensibilizzata con anticorpi diretti contro l'antigene del Clostridium difficile (GDH). La specificità del test è assicurata da un anticorpo specifico per il Clostridium difficile GDH coniugato all'oro colloidale. Questo coniugato è essiccato su poliestere.

Il campione fecale deve essere diluito nel tampone di estrazione fornito con il test. Quando la sospensione fecale viene a contatto con la striscia, il coniugato solubilizzato migra con il campione per diffusione passiva e il coniugato e il materiale del campione entrano in contatto con l'anticorpo anti-Clostridium adsorbito sulla nitrocellulosa. Se il campione contiene GDH di C. difficile, il complesso dell'antigene coniugato rimarrà legato al reagente anti-C. difficile GDH e si svilupperà una linea rossa. La soluzione continua a migrare per incontrare un secondo reagente che lega il coniugato del controllo di migrazione, producendo in tal modo una linea di controllo rossa che conferma che il test sta funzionando correttamente. Il risultato è visibile entro 10 minuti.

### REAGENTI

Il test contiene particelle di GDH anti-Clostridium difficile e GDH anti-Clostridium difficile depositati sulla membrana.

### PRECAUZIONI

- Tutte le operazioni legate all'utilizzo del test devono essere eseguite secondo le Good Laboratory Practices (GLP).
- Tutti i reagenti sono solo per uso diagnostico in vitro.
- Evitare di toccare la nitrocellulosa con le dita.
- Indossare guanti durante la manipolazione dei campioni.
- Non utilizzare mai reagenti di un altro kit.
- La qualità dei reagenti non può essere garantita oltre la data di scadenza o se i reagenti non sono conservati nelle condizioni richieste come indicato nelle Istruzioni per l'uso.
- Smaltire guanti, pipette, provette e dispositivi usati in conformità con la GLP.
- Ogni utente è responsabile della gestione dei rifiuti prodotti e deve assicurarsi che venga smaltito in conformità con la legislazione applicabile.

### CONSERVAZIONE E STABILITÀ

Conservare imballato a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). Il test è stabile fino alla data di scadenza stampata sulla busta sigillata. Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino al momento dell'uso. **NON CONGELARE.** Non usare oltre la data di scadenza.

### RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di feci devono essere testati il più presto possibile dopo la raccolta. Se necessario, il campione di feci può essere conservato a 2-8°C per 3 giorni o a -20°C per periodi di tempo più lunghi; il campione estratto nel tampone può essere conservato a 2-8°C per 1 settimana o a -20°C per periodi di tempo più lunghi.

Assicurarsi che i campioni non siano trattati con soluzioni contenenti formaldeide o suoi derivati.

### MATERIALI

- Test in cassetta
- pipette contagocce
- Materiali forniti
- Provette di raccolta del campione con tampone
- Istruzioni per l'uso

### Materiali richiesti ma non forniti

- Timer
- Contenitori per la raccolta dei campioni

### ISTRUZIONI PER L'USO

Lasciare che il test, il campione, il tampone di raccolta delle feci e/o il controllo si equilibrino a temperatura ambiente (15-30°C) prima di effettuare il test.

1. Per la preparazione dei campioni fecali:

#### Per campioni solidi:

Svitare il cappuccio del tubo di raccolta del campione, quindi inserire a caso l'applicatore di raccolta del campione nel campione fecale almeno in 3 diversi siti per raccogliere circa 50 mg di feci (equivalenti a 1/4 di un pisello). Non scavare il campione fecale.

#### Per campioni liquidi:

Tenere il contagocce in posizione verticale, aspirare i campioni fecali e quindi trasferire 2 gocce del campione liquido (circa 80 µl) nella provetta di raccolta del campione contenente il tampone di estrazione.

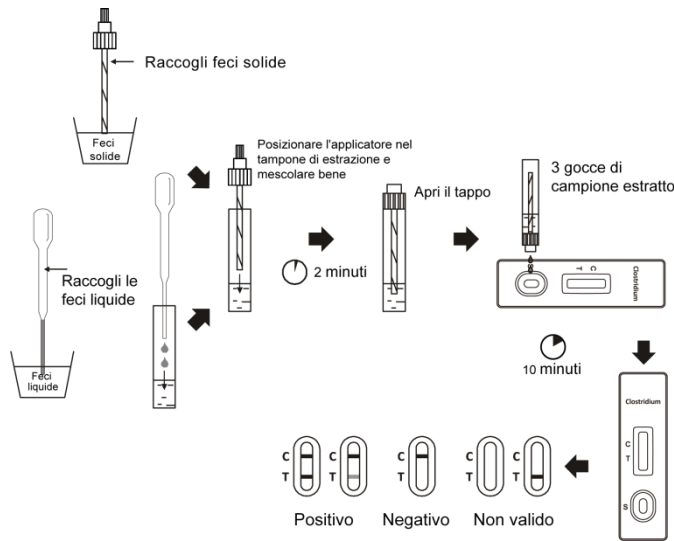
Chiudere il cappuccio sulla provetta di raccolta del campione, quindi agitare vigorosamente la provetta di raccolta del campione per mescolare il campione e il tampone di estrazione. Lasciare reagire la provetta di raccolta per 2 minuti.

2. Rimuovere la cassetta del test dalla busta di alluminio e usarla il più presto possibile. I risultati migliori si ottengono se il test viene eseguito immediatamente dopo l'apertura della busta di alluminio.

3. Tenere il tubo di raccolta del campione in posizione verticale e svitare il cappuccio del tubo di raccolta del campione. Capovolgere la provetta di raccolta del campione e trasferire **3 gocce del campione estratto** (circa 120 µL) nel pozzetto del campione (S) della cassetta del test, quindi avviare il timer. Evitare di intrappolare bolle d'aria nel pozzetto del campione (S). Vedi l'illustrazione qui sotto.

4. Leggere i risultati a **10 minuti** dopo aver dispensato il campione. Non leggere i risultati dopo **20 minuti**.

**Nota:** se il campione non migra (presenza di particelle), centrifugare il campione diluito contenuto nella fiala del tampone di estrazione. Raccogliere 80 µl di supernatante, versare nel pozzetto del campione (S) di una nuova cassetta di test e ricominciare da capo seguendo le istruzioni sopra menzionate.



### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati devono essere interpretati come segue:

**POSITIVO:** \* Appaiono due linee colorate distinte. Una linea colorata dovrebbe essere nella zona della linea di controllo (C) e un'altra linea colorata dovrebbe essere nella zona della linea di test (T).

\* NOTA: l'intensità del colore nella regione della linea di test (T) varierà in base alla concentrazione di antigene GDH di Clostridium difficile presente nel campione. Pertanto, qualsiasi tonalità di colore nella zona della linea di test (T) dovrebbe essere considerata positiva.

**NEGATIVO:** una linea colorata appare nella zona della linea di controllo (C). Nessuna linea appare nella zona della linea di test (T).

**NON VALIDO:** la linea di controllo (C) non viene visualizzata. Il volume di campione insufficiente o le tecniche procedurali errate sono le ragioni più probabili per il fallimento della linea di controllo. Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova cassetta. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'uso del kit e contattare il proprio distributore locale

Nota: durante il processo di asciugatura, potrebbe apparire un'ombra molto debole a livello della linea di test (T). Non dovrebbe essere considerato come un risultato positivo.

### CONTROLLO DI QUALITÀ

Un controllo procedurale interno è incluso nel test. Una linea colorata che appare nella zona della linea di controllo (C) è un controllo procedurale positivo interno. Conferma volume del campione sufficiente, adeguato assorbimento della membrana e corretta tecnica procedurale.

Gli standard di controllo non sono forniti con questo kit; Si raccomanda di testare i

controlli positivi e negativi come buona pratica di laboratorio per confermare la procedura del test e verificarne le prestazioni.

### LIMITI

1. Il test è qualitativo e non può prevedere la quantità di antigeni presenti nel campione. La presentazione clinica e altri risultati dei test devono essere presi in considerazione per stabilire la diagnosi.

2. Un test positivo non esclude la possibilità che altri patogeni possano essere presenti.

### PRESTAZIONE

#### Limite di rilevamento

Il limite di rilevazione è stato valutato diluendo una preparazione GDH purificata e i risultati mostrano che la concentrazione di proteina rilevata è 1 ng/ml.

#### Sensibilità - Specificità

Metodo	Altro Test Rapido		Totale Risultati
Clostridium difficile GDH Test Rapido in Cassetta (feci)	Risultati Positivi	Risultati Negativi	
Positivi	78	2	80
Negativi	1	119	120
Totale Risultati	79	121	200

Sensibilità Relativa: 98.7% (95%CI:\*93.1%-100%)

Specificità Relativa: 98.3% (95%CI:\*94.2%-99.8%)

Accuratezza Relativa: 98.5% (95%CI:\*95.7%-99.7%) \*Intervalli di confidenza

#### Ripetibilità e riproducibilità

Per verificare l'accuratezza intra-batch (ripetibilità), gli stessi campioni positivi e una soluzione tampone sono stati testati 15 volte su kit dello stesso lotto di produzione nelle stesse condizioni sperimentali. Tutti i risultati osservati sono stati confermati come previsto. Per verificare l'accuratezza tra lotti (riproducibilità), alcuni campioni (positivi e tampone) sono stati testati su kit di tre diversi lotti di produzione. Tutti i risultati sono stati confermati come previsto.

#### Reattività incrociata

È stata eseguita una valutazione per determinare la reattività incrociata della cassetta di test rapido GDH di Clostridium difficile (feci). Nessuna reattività crociata è stata rilevata con i patogeni gastrointestinali occasionalmente presenti:

Campylobacter coli	Salmonella enteritidis	Shigella dysenteriae
Campylobacter jejuni	Salmonella paratyphi	Shigella flexneri
E.coli O157:H7	Salmonella typhi	Shigella sonnei
H.pylori	Salmonella typhimurium	Staphylococcus aureus
Listeria monocytogenes	Shigella boydii	Yersinia enterocolitica

### BIBLIOGRAFIA

- RamadassBalamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishnan: *Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction*, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008
- E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl6, p. 2-18, Oct. 2006
- Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T.Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
- Ramsey L. et al: *Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications*, Annals of Surgery 235 (3) p. 363-372: Mar. 2002
- Wren MW., Kinson R., Sivapalan M., Shemko M., Shetty NR.: *Detection of Clostridium difficile infection: a suggested laboratory diagnostic algorithm*, British Journal of Biomedical Sciences, 66(4) p. 175-179, 2009.
- Willis DH. And JA Kraft: *Confirmation that the latex-reactive protein of Clostridium difficile is a Glutamate Dehydrogenase*. Journal of clinical microbiology, 30, p. 1363-1364, May 1992

#### Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Utilizzare per		Non riutilizzare
	Conservare tra 2-30 °C		Numero di lotto		Catalogare #
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata		Fabbricante		



SCREEN ITALIA S.r.l.  
Via dell'Artigianato, 16  
06089 - Torgiano - Perugia - Italia  
www.screenitalia.it info@screenitalia.it



Numero: 145627302  
Data: 2019-11-20