

RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH

REF C0701



1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH è un dosaggio immunoenzimatico per la determinazione qualitativa della glutammato deidrogenasi specifica al *Clostridium difficile* in campioni di feci umane.

2. Sintesi e spiegazione del test

I batteri *Clostridium difficile* sono batteri strettamente anaerobi, a bastoncello, che formano spore e fanno parte della normale flora fecale negli esseri umani. **Risale al 2016 la proposta di riclassificare il batterio con il nome *Clostridioides difficile*. Entrambe le denominazioni sono ritenute accettabili.**

In condizioni normali, il tasso di colonizzazione di questi agenti patogeni per lo più innocui è molto alto nei primi anni dell'infanzia, dove raggiunge l'80 %. Questo tasso si riduce costantemente durante il corso della vita e in media non supera il 2 %-10 % nell'età adulta. In determinate condizioni, tuttavia, per esempio durante una degenza in ospedale, può superare di poco il 30 %. Decisiva per un'infezione da *Clostridium difficile* (CDI) è la formazione di tossine A (enterotossine) e B (citotossine) ad alto peso molecolare. Dato che alcuni ceppi di *Clostridium difficile* non producono le tossine e che approssimativamente il 2 %-8 % degli adulti sani e fino all'80 % dei bambini di età inferiore ai due anni possono essere portatori di *Clostridium difficile*, solo la determinazione delle tossine A e B ha rilevanza patognomonica nel caso di sospetta diarrea associata a *C. difficile* (CDAD). Tuttavia, questo vale solo se la colonizzazione dell'intestino crasso da parte dei batteri *C. difficile* è sufficiente a produrre una quantità di tossine apprezzabile. Un indebolimento della flora batterica intestinale protettiva favorisce la colonizzazione. Lo squilibrio dovuto alla terapia antibiotica, per esempio, o ad altri fattori in grado di compromettere l'immunità intestinale, può favorire la diffusione dei ceppi di *C. difficile* che mostrano un'ampia e crescente resistenza verso vari antibiotici. Altri fattori di virulenza, come una maggiore produzione di tossine derivante da difetti di regolazione di numerosi ceppi di recente definizione, hanno reso il *C. difficile* un "patogeno riemergente" con patogenicità non più limitata ai soggetti che sviluppano l'infezione da *Clostridium difficile* (CDI) dopo un trattamento antibiotico, ma sempre più spesso estesa a persone non sottoposte ad alcun trattamento né ospedalizzate. La crescente importanza di questo microrganismo, in particolare come patogeno nosocomiale, ha condotto a nuovi approcci terapeutici, ma soprattutto a nuovi algoritmi per la diagnosi delle infezioni da *C. difficile*. L'obiettivo principale è identificare il *C. difficile* per evitare la trasmissione a pazienti ospedalizzati, indipendentemente dal fatto che si tratti di ceppi tossigeni o non tossigeni di *C. difficile*. L'enzima glutammato deidrogenasi (GDH), diffuso tra molti organismi e presente in numero elevato, ha dimostrato di essere un marcatore di screening sensibile. Dato che molti batteri intestinali hanno questo enzima, è fondamentale che i sistemi di rivelazione individuino la GDH specifica per il *C. difficile* con una specificità affidabile e una sensibilità elevata.

Il dosaggio immunoenzimatico RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH soddisfa più che adeguatamente entrambi i requisiti. Anche se il test non può sostituire la necessità di individuare le tossine A e B per una diagnosi certa di CDI, rende più affidabile la determinazione di questo importante patogeno nosocomiale se condotto prima o parallelamente al test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B. Solo i sintomi specifici della malattia e l'identificazione delle tossine A e B consentono la diagnosi di CDI e la definizione di un piano terapeutico adeguato.

3. Principio del test

Il test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH utilizza anticorpi monoclonali con un metodo a sandwich. Questi anticorpi monoclonali diretti contro la glutammato deidrogenasi di *Clostridium difficile* sono legati alla superficie dei pozzetti della piastra da microtitolazione.

Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono pipettati nel pozzetto della piastra da microtitolazione insieme ad anticorpi anti-GDH biotinilati (Coniugato 1) per essere incubati a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Dopo il lavaggio si aggiunge il poli-coniugato streptavidina-perossidasi (Coniugato 2) e si procede a nuova incubazione a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Qualsiasi GDH specifica per il *Clostridium difficile* presente nel campione forma un complesso a sandwich composto da anticorpi immobilizzati, GDH e anticorpi coniugati. Un ulteriore lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, dopo l'aggiunta di un substrato, l'enzima legato converte la soluzione incolore nei pozzetti della piastra da microtitolazione in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione della GDH di *Clostridium difficile* nel campione.

4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Tabella 1: Contenuto della confezione

Plate	96 test	Piastra da microtitolazione, 12 strisce da microtitolazione (frazionabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con anticorpi (murini) diretti contro la glutammato deidrogenasi specifica di <i>Clostridium difficile</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampone di diluizione 1, soluzione salina proteica tamponata, pronta per l'uso, colorazione blu
Wash buffer	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione salina tamponata al fosfato (concentrazione 10x); contiene lo 0,1 % di Thimerosal
Control +	2 ml	Controllo positivo; proteina GDH inattivata, pronto per l'uso
Control -	2 ml	Controllo negativo (tampone di diluizione), pronto per l'uso
Conjugate 1	13 ml	Anticorpi coniugati con biotina (murini) diretti contro la glutammato deidrogenasi specifica di <i>Clostridium difficile</i> in soluzione proteica stabilizzata pronta per l'uso, colorazione blu
Conjugate 2	13 ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso, colorazione arancione
Substrate	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente bloccante; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

I materiali pericolosi sono indicati in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a 2 - 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito ha una durata massima di quattro settimane se conservato a una temperatura compresa tra

2 °C e 8 °C e di **una settimana se conservato a 20 - 25 °C**. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida.

Se conservato correttamente fra 2 e 8 °C, il kit aperto ha una durata di almeno sei settimane.

La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce da microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per prevenire la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

6. Reagenti necessari ma non in dotazione

6.1 Reagenti necessari

Per eseguire il test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH sono necessari i seguenti reagenti:

Reagenti
Acqua distillata o deionizzata

6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per eseguire il test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH è necessaria la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Flaconi per campioni
Pipette monouso (Codice articolo: Z0001)
Agitatore a vortice (facoltativo, vedere punto 9.3.)
Micropipetta per volumi da 50 - 100 µl e 1 ml
Cilindro graduato (1000 ml)
Cronometro
Dispositivo di lavaggio per piastre da microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
Fotometro per piastre da microtitolazione (450 nm, filtro di riferimento da 620 a 650 nm)
Carta da filtro (salviette da laboratorio)

7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso. Non pipettare con la bocca campioni o reagenti, evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, camice e occhiali di sicurezza adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni.

Per ulteriori dettagli consultare le schede dati di sicurezza (SDS) su www.r-biopharm.com.

Il controllo positivo fornito nel kit contiene la proteina GDH ricombinante. Deve essere trattato come potenzialmente infettivo, analogamente al campione del paziente, e maneggiato in conformità delle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene lo 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Gli operatori sono responsabili del corretto smaltimento di tutti i reagenti e materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

8. Raccolta e conservazione dei campioni

I campioni di feci devono essere raccolti il più presto possibile entro tre giorni dalla comparsa dei sintomi di diarrea. Fino al momento dell'utilizzo, conservare il materiale del test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Qualora il materiale non possa essere analizzato entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente il campione. Un campione di feci diluito 1:11 nel tampone di diluizione può essere conservato a 2 - 8 °C per un massimo di tre giorni (Tabella 2).

Tabella 2: Conservazione del campione

Campione fecale non diluito		Campione fecale diluito
da 2 a 8 °C	≤ -20 °C	da +2 a 8 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni	≤ 3 giorni

I campioni di feci e gli strisci rettali non devono essere riposti in contenitori da trasporto contenenti sostanze come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti o detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH. Se vengono usati strisci rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente per il test (circa 100 mg). Le indagini ambientali devono includere anche campioni di feci prelevati da persone che non mostrano sintomi clinici al fine di identificare i portatori asintomatici.

9. Esecuzione del test

9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione [Plate] devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce da microtitolazione devono essere rimosse dalla busta di alluminio solo dopo aver raggiunto la temperatura ambiente. Mescolare bene i reagenti immediatamente prima dell'uso. Dopo l'uso, conservare le strisce da microtitolazione (poste in buste sigillate) e i reagenti a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Una volta utilizzate, le strisce non devono essere riutilizzate. Non utilizzare reagenti o strisce da microtitolazione se la confezione è danneggiata o i contenitori non sono sigillati ermeticamente.

Impedire il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione crociata.

Il test non deve essere eseguito alla luce solare diretta. Si raccomanda di coprire o sigillare con una pellicola in plastica la piastra da microtitolazione per evitare la perdita per evaporazione.

9.2 Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare una parte di tampone di lavaggio concentrato [Wash buffer] con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere prima sciolti mediante riscaldamento (bagnomaria a 37 °C).

9.3 Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta etichettata 1 ml di tampone di diluizione [Diluent | 1].

Utilizzare una pipetta monouso (codice prodotto Z0001) per aspirare un campione di feci liquide (circa 100 µl) fino a superare di poco la seconda graduazione e aggiungerlo al tampone nella provetta per ottenere una sospensione. In caso di campioni di feci solide, introdurre una quantità equivalente (circa 50-100 mg) con una spatola o ansa da inoculo monouso e procedere alla sospensione.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un agitatore a vortice. Lasciar riposare la sospensione per un breve periodo (10 minuti) affinché le particelle più grandi possano depositarsi, quindi usare il surnatante chiarificato direttamente nel test. Se il test viene eseguito in un sistema ELISA automatico, il surnatante non deve contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare la sospensione a 2.500 g per 5 minuti.

Nota: I campioni di feci diluiti nel [Diluent | 1] possono essere utilizzati anche in tutti gli altri test ELISA RIDASCREEN® che utilizzano il [Diluent | 1].

9.4 Prima incubazione

Dopo aver collocato un numero di pozzetti sufficiente nel telaio, aggiungere ai pozzetti 100 µl di controllo positivo **Control | +**, controllo negativo **Control | -** o campione di feci in sospensione. Quindi aggiungere 100 µl di anticorpo coniugato con biotina **Conjugate | 1**, miscelare (picchiettando delicatamente sul bordo della piastra) e incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (da 20 a 25 °C).

9.5. Lavaggio

Per ottenere risultati corretti è importante un accurato lavaggio, da effettuare in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni di legge. A questo punto picchiettare la piastra su carta assorbente per eliminare l'umidità residua. Lavare poi la piastra cinque volte, utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito **Wash buffer**. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati picchiettandoli dopo ciascun lavaggio su una parte di carta assorbente ancora asciutta e inutilizzata.

Se si utilizza un dispositivo di lavaggio per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia regolata correttamente o, se necessario, chiedere le impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati. Per evitare di intasare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere punto 9.3. Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che in ogni fase di lavaggio tutto il liquido venga aspirato.

9.6 Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di poli-coniugato streptavidina-perossidasi **Conjugate | 2** nei pozzetti, quindi incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.7. Lavaggio

Lavare come descritto al punto 9.5.

9.8 Terza incubazione

Aggiungere 100 µl di substrato **Substrate** a ogni pozzetto. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Successivamente, arrestare la reazione aggiungendo 50 µl di reagente bloccante **Stop** a ogni pozzetto. Dopo avere miscelato con cura (picchiettando leggermente il bordo della piastra), **misurare l'estinzione a 450 nm e alla lunghezza d'onda di riferimento di 620 nm.**

Nota: I campioni di pazienti altamente positivi possono produrre precipitati nerastri del substrato.

9.9 Protocollo di test abbreviato

I tempi di incubazione descritti ai punti 9.4, 9.6 e 9.8 possono essere notevolmente ridotti incubando la piastra a 37 °C e con una frequenza di agitazione pari a 20 - 25 Hz (DSX di Dynex). I tempi di incubazione si modificano come segue:

Prima incubazione: 30 min

Seconda incubazione: 15 min

Terza incubazione: 15 min

Tra gli agitatori per piastre da microtitolazione separati idonei all'uso segnaliamo il Thermomixer della Eppendorf (frequenza 850 giri/min) e il DTS-2 della LTF Labortechnik (frequenza 800 giri/min).

10. Controllo di qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo a ogni test al fine di garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione dell'analisi. **Il test si ritiene eseguito correttamente quando il valore di estinzione (OD) del controllo negativo a 450/620 nm è inferiore a 0,160 e il valore misurato del controllo positivo a 450/620 nm è superiore a 0,8.** Un valore superiore a 0,160 per il controllo negativo può indicare un lavaggio insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, così come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'introduzione nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti.

Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare quanto segue:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Prestazioni funzionali dell'attrezzatura utilizzata (ad esempio calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllo visivo dei componenti del kit per verificare che non presentino contaminazione o perdite; se la soluzione di substrato presenta una colorazione blu non deve essere utilizzata.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo aver ripetuto il test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

11. Valutazione e interpretazione

11.1 Calcolo del valore limite

Per stabilire il **valore limite**, aggiungere 0,10 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

Valore limite = estinzione del controllo negativo + 0,10

11.2 Risultato del test

Il campione è considerato positivo se il valore di estinzione supera il valore limite calcolato di oltre il 10 %.

Sono considerati borderline e devono essere rianalizzati i campioni che presentano un valore di estinzione da ≤ 10 % oltre a ≤ 10 % sotto il valore limite. Se i risultati del nuovo test su un campione di feci di nuova preparazione risultano ancora nella zona grigia, il campione deve essere considerato **borderline**.

I campioni che sono inferiori di oltre il 10 % al valore limite calcolato devono essere considerati negativi.

12 Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH rileva la glutammato deidrogenasi specifica di *Clostridium difficile* nei campioni di feci. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. Per una diagnosi certa di CDI è necessario il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B in associazione ai sintomi clinici.

Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni infettivi o di altre cause.

Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da *C. difficile*. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente dell'agente patogeno oppure è possibile che la quantità di antigeni nel campione sia insufficiente. Se l'anamnesi del paziente supporta un sospetto di CDI, è necessario analizzare un altro campione di feci.

Un risultato borderline può essere dovuto a una distribuzione disomogenea degli antigeni nel campione di feci. In questo caso è necessario testare una seconda sospensione dello stesso campione o procedere al test su un nuovo campione.

13 Prestazioni e caratteristiche

13.1 Qualità del test

Un uno studio retrospettivo di validazione con il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH sono stati esaminati 92 campioni di feci. I campioni scongelati sono stati omogeneizzati e testati in un confronto tra il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH e un altro test ELISA disponibile in commercio. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 3.

Tabella 3: Confronto tra RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH e un test ELISA disponibile in commercio

		ELISA concorrente	
		+	-
RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH	+	30	7
	-	0	55

Concordanza positiva: 89,6 %

Concordanza negativa: 94,0 %

13.2 Sensibilità analitica

Per determinare la sensibilità analitica del test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH è stato determinato il limite di bianco (LoB) in 90 test di campioni di feci negativi. Il limite di rilevazione (LoD) è stato poi determinato utilizzando 72 test di una proteina di glutammato deidrogenasi ricombinante. I risultati sono riportati nella Tabella 4.

Tabella 4: Valutazione della sensibilità analitica per il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH

	MV [OD 450/620]	ng/ml
LoB	0,018	-
LoD	-	0,024

13.3 Cross-reattività

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Questi studi sono stati condotti con sospensioni batteriche che presentavano una concentrazione da 10⁶ a 10⁹ per ml. I surnatanti della coltura virale e i campioni di feci sono elencati di conseguenza. I risultati di questo studio sono riportati nella Tabella 5.

Tabella 5: Cross-reattività con microrganismi patogeni

Organismo	Origine	MV [OD 450/620]
Adenovirus	Surnatante di coltura	-0,010
Aeromonas hydrophila	Coltura	-0,010
Astrovirus	Surnatante di coltura	-0,006
Bacillus cereus	Coltura	-0,012
Bacteroides fragilis	Coltura	-0,004
Campylobacter coli	Coltura	-0,008
Campylobacter jejuni	Coltura	-0,011
Candida albicans	Coltura	-0,007
Citrobacter freundii	Coltura	-0,006
Clostridium bifermentans	Coltura	-0,004
Clostridium difficile	Coltura	3,472
Clostridium novyi	Coltura	-0,007
Clostridium perfringens	Coltura	-0,007
Clostridium sordellii	Coltura	-0,009
Clostridium sporogenes	Coltura	-0,011
Cryptosporidium muris	Coltura	-0,005
Cryptosporidium parvum	Coltura	-0,010
E. coli (O157:H7)	Coltura	-0,006
E. coli (O26:H-)	Coltura	-0,006
E. coli (O6)	Coltura	-0,001
Entamoeba histolytica	Feci	-0,001
Enterobacter cloacae	Coltura	-0,001
Enterococcus faecalis	Coltura	-0,004
Giardia lamblia	Feci	0,001
Klebsiella oxytoca	Coltura	-0,005
Norovirus Ag Desert Shield	Capside	-0,004
Norovirus Ag Hawaii	Capside	-0,004
Norovirus Ag md 14S	Capside	-0,008
Norovirus Ag Norwalk	Capside	0,000
Norovirus Ag Snow Mountain	Capside	-0,001
Norovirus Ag Toronto	Capside	-0,005
Proteus vulgaris	Coltura	-0,009
Pseudomonas aeruginosa	Coltura	-0,015

Organismo	Origine	MV [OD 450/620]
Rotavirus	Surnatante di coltura	-0,011
Salmonella enteritidis	Coltura	-0,004
Salmonella typhimurium	Coltura	-0,005
Serratia liquefaciens	Coltura	-0,006
Shigella flexneri	Coltura	-0,005
Staphylococcus aureus	Coltura	-0,009
Staphylococcus epidermidis	Coltura	-0,012
Vibrio parahaemolyticus	Coltura	-0,009
Yersinia enterocolitica	Coltura	-0,007

13.4 Precisione

La riproducibilità del test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH è stata verificata su sei riferimenti che rappresentano l'intero range di misurazione da negativo ad altamente positivo. Per la determinazione della riproducibilità intra-test sono stati esaminati 40 replicati di questi riferimenti. Sono stati determinati i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tre lotti. Per la riproducibilità inter-test, le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite in 10 giorni diversi con 2 serie al giorno con test doppi. Le misurazioni sono state determinate in 3 lotti da 4 tecnici. La riproducibilità inter-lotto è stata determinata per tutti e 3 i lotti. I risultati sono riportati nella Tabella 6.

Tabella 6: Risultati della sensibilità analitica per il test ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH

Riferimento	Valore medio / CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lotto
		Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotti kit 1-3
1	MV	2,333	2,192	2,438	2,504	2,411	2,376	2,430
	CV (%)	8,10 %	6,71 %	4,23 %	5,65 %	7,84 %	8,14 %	7,59 %
2	MV	1,804	1,593	1,741	1,935	1,907	1,871	1,904
	CV (%)	5,24 %	6,73 %	5,34 %	6,82 %	9,26%	9,29 %	8,51 %
3	MV	1,477	1,312	1,436	1,531	1,561	1,481	1,525
	CV (%)	7,74 %	8,91 %	6,88 %	7,91 %	10,95 %	9,64 %	9,76 %
4	MV	1,125	0,888	0,951	1,139	1,183	1,117	1,146
	CV (%)	8,25 %	8,24 %	8,55 %	8,05 %	11,49 %	11,55 %	10,67 %
5	MV	0,697	0,590	0,714	0,729	0,776	0,708	0,738
	CV (%)	8,06 %	10,13 %	13,78 %	9,88 %	11,51 %	13,59 %	12,38 %
6	MV	-0,003	-0,003	-0,007	0,008	-0,001	-0,002	0,002
	CV (%)	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile	non disponibile

13.5 Sostanze interferenti

Le sostanze incluse nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate a campioni di feci positivi e negativi al *C. difficile* nelle concentrazioni specificate:










Mucina	5,0 % w/w	Diclofenac	0,1 % v/w
Sangue umano	5,0 % v/w	Ciclamato	1,3 % v/w
Solfato di bario	18,5 % w/w	Metronidazolo	3,0 % w/w
Loperamide	0,02 % w/w	Emoglobina	5,0 % v/w
Peptobismol	6,3 % v/w	Vancomicina	3,0 % w/w
Acido stearico/ acido palmitico	40 % w/w (1:1)		

14 Cronologia delle versioni



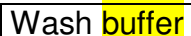


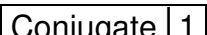
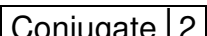
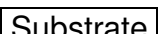

Numero della versione	Sezione e denominazione
2017-04-20	Versione precedente
2020-02-18	Revisione generale 2 Sintesi e spiegazione del test 4 Contenuto della confezione 5 Istruzioni di conservazione 8 Raccolta e conservazione dei campioni 9.2 Preparazione del tampone di lavaggio 9.5. Lavaggio 9.8 Terza incubazione 10 Controllo di qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti 11 Valutazione e interpretazione 13 Prestazioni e caratteristiche 15 Descrizione dei simboli 16 Bibliografia

15 Descrizione dei simboli

Simboli generali

	Diagnostica <i>in vitro</i>
	Leggere le istruzioni per l'uso
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

Simboli specifici del test

	Piastra da microtitolazione
	Tampone di diluizione 1
	Tampone di lavaggio
	Controllo positivo
	Controllo negativo
	Coniugato 1
	Coniugato 2
	Substrato
	Reagente bloccante

16. Bibliografia

1. Lyerly, D.M. et al.: Clostridium difficile: Its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. (1988); 1: 1-18.
2. Knoop, F.C. et al.: Clostridium difficile: Clinical disease and diagnosis. Clin. Microb. Rev. (1993); 6: 251-265.
3. Kelly, C.P. et al.: Clostridium difficile Colitis. New Engl. J. Med. (1994); 330: 257-262.
4. Sullivan, N.M. et al.: Purification and characterization of toxins A and B of Clostridium difficile. Infect. Immun. (1982); 35: 1032-1040.
5. Thomas, D.R. et al.: Postantibiotic colonization with Clostridium difficile in nursing home patients. J. Am Geriatr. Soc. 38, 415-420 (1990).
6. Bartlett, J.G.: Clostridium difficile: Clinical considerations. Rev. Infect. Dis. (1990); 12: 243-251.
7. Cefai, C. et al.: Gastrointestinal carriage rate of Clostridium difficile in elderly, chronic care hospital patients. J. Hosp. Infect. (1988); 11: 335-339.
8. Asha, N.J. et al.: Comparative analysis of prevalence, risk factors and molecular epidemiology of Antibiotic –associated diarrhea due to Clostridium difficile, Clostridium perfringens, and Staphylococcus aureus. J.Clin. Microbiol. (2006); 44: 2785-2791.
9. Voth, D.E., Ballard, J.: Clostridium difficile toxins: Mechanism of action and role in disease. J.Clin. Microbiol. (2005); 18: 247-263.
10. Borgmann, S. et al.: Increased number of Clostridium difficile infections and prevalence of Clostridium difficile PCR ribotype 001 in southern Germany. Eurosurveillance (2008); Vol 13: No.49.
11. Mc.Donald, L.C. et al.: An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N.Engl.J.Med. (2005); 353: 23.
12. Loo, V.G. et al.: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. N.Engl.J.Med. (2005); 353:23
13. Bartlett, J.G. , Gerding, D.N.: Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. CID (2008); 46(Suppl. 1): 12-18.
14. Kufelnicka, A.M. , Kirn, T.J.: Effective utilization of evolving methods for laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. Clin.Infect. Dis. (2011)52: 1451-1457
15. Riggs, M.S.A. et al.: Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic Clostridium difficile strains among long-term care facility residents. Clin. Infect. Dis.(2007)45:992-998
16. Lawson, P.A., et al.: Reclassification of Clostridium difficile as Clostridioides difficile (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. Anaerobe (2016)40: 95-9
17. Oren, A. , Rupnik M.: Clostridium difficile and Clostridioides difficile: Two validly published and correct names. Anaerobe (2018)52:125-126.