

RIDA® GENE CD Toxin A/B

REF PG0825



1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA[®]GENE CD Toxin A/B ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis der *Clostridium difficile* Toxin-Gene A (tcdA) und B (tcdB) aus humanen Stuhl- und Kulturproben. Die RIDA[®]GENE CD Toxin A/B real-time PCR soll die Diagnose einer *Clostridium difficile* assoziierten Diarrhoe (CDAD) unterstützen.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Die Erstbeschreibung von *Clostridium difficile*, eines gram-positiven sporenbildenden anaeroben Bakteriums, erfolgte 1935 durch Hall und O'Toole, die die Darmflora gesunder Säuglinge untersuchten.¹ Erst in den späten 1970er Jahren wurde *Clostridium difficile* als Erreger der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe sowie der pseudomembranösen Kolitis identifiziert.² Heute ist *Clostridium difficile* einer der häufigsten Erreger der nosokomialen Diarrhoe.

Clostridium difficile ist die Hauptursache bei 15 - 25% aller Patienten mit Antibiotika-assoziierten Diarrhoe und bei fast allen Patienten mit pseudomembranöser Kolitis.³ Prädisponierende Risikofaktoren für eine *Clostridium difficile* assoziierte Diarrhoe sind z.B. Antibiotikatherapie, Alter des Patienten, sowie Länge und Anzahl der Krankenhausaufenthalte. Zunehmend erkranken aber auch nicht Antibiotika-therapierte und nicht hospitalisierte Patienten an einer *Clostridium difficile*-Infektion. Die Krankheitssymptome reichen von leichten Durchfällen über Darmentzündungen unterschiedlicher Schwere bis hin zur pseudomembranösen Kolitis, der schwersten Form der Antibiotika-assoziierten Diarrhoe. Die klinische Symptomatik wird durch toxigene Stämme von *Clostridium difficile*, die das Toxin A und Toxin B produzieren, hervorgerufen. In den letzten Jahren stiegen Anzahl und Schwere der Erkrankungen weltweit an.⁴

Die real-time PCR liefert schnell hochsensitive und spezifische Patientenergebnisse bei Verdacht auf eine CDAD. Dies ermöglicht eine schnelle spezifische Behandlung von CDAD-Patienten und die Einleitung von Hygienemaßnahmen.

3. Testprinzip

RIDA[®]GENE CD Toxin A/B ist eine multiplex real-time PCR zum direkten qualitativen Nachweis der *Clostridium difficile* Toxin-Gene A (tcdA) / B (tcdB) in humanen Stuhl- und Kulturproben.

Nach der DNA-Isolierung werden (falls vorhanden) die spezifischen Genfragmente von Toxin A und Toxin B (tcdA/tcdB) amplifiziert. Die amplifizierten Zielsequenzen werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die Taq-Polymerase den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische

Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA® GENE CD Toxin A/B Test enthält eine **Internal Control DNA** (ICD), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR-Inhibition kontrollieren zu können.

4. Packungsinhalt

Tab.1: Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

Kit Code	Reagenz	Menge		Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	gelb
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rot
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	weiß
P	Positive Control	1x	200 µl	blau

5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu **20 Mal** beeinträchtigt die Testeigenschaft nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

Der RIDA® GENE CD Toxin A/B multiplex real-time PCR Test ist geeignet für die Verwendung mit folgenden Extraktionsplattformen und real-time PCR-Geräten:

Tab. 2: Benötigtes Zubehör

Extraktionsplattformen	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
bioMérieux	NucliSENS easy®MAG™
Real-time PCR-Geräte	
Roche	LightCycler® 2.0, LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Hinweis: Bei Verwendung des Rotor-Gene Q (QIAGEN) nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden

Sollten Sie weitere Extraktionsverfahren oder real-time PCR Geräte verwenden wollen, kontaktieren Sie bitte R-Biopharm zur Überprüfung der Kompatibilität unter mdx@r-biopharm.de.

- RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) bei Verwendung des LightCycler® 2.0
- RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) bei Verwendung des LightCycler® 480II
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße oder Platten
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe
- PCR-Wasser (BioScience-Grade, Nuklease-freies Wasser)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Test die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen, wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) unter www.r-biopharm.com.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

8.1 DNA-Präparation aus Stuhlproben

Für die DNA-Präparation aus Stuhlproben wird ein kommerziell erhältliches DNA-Extraktionskit (z.B. RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) oder DNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell[®] RSC (Promega)) empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Es wird empfohlen die Stuhlproben vor der Extraktion 1:3 mit Wasser zu verdünnen, stark zu vortexen und 30 sec bei 1000 x g zu zentrifugieren. Aus dem Überstand das entsprechende Volumen nach Angaben des Herstellers verwenden.

Der RIDA[®] GENE CD Toxin A/B Test enthält eine Internal Control DNA, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die Internal Control DNA kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die Internal Control DNA nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der Internal Control DNA dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 4).

Wird die Internal Control DNA als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der Internal Control DNA während der Extraktion eingesetzt werden. Die Internal Control DNA soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

8.2 DNA-Präparation aus Kulturproben

Für die DNA-Präparation aus Kulturproben wird folgende Extraktionsmethode empfohlen: Für die Kulturproben 1 ml PCR-Wasser in ein Präparationsröhrchen vorlegen. Mit einer Impföse mehrere Kolonien sammeln und im vorgelegten PCR-Wasser suspendieren. Den Stab der Impföse abbrechen oder abschneiden. Das Präparationsröhrchen dicht verschließen und 60 sec stark vortexen. Danach im Heizblock für 10 min bei 95°C unter Schütteln erhitzen. Anschließend 1 min bei 13.000 x g zentrifugieren und den Überstand als Probe einsetzen.

Hinweis: Bei starker Trübung den Zentrifugationsschritt ggf. wiederholen.

Der RIDA®GENE CD Toxin A/B Test enthält eine Internal Control DNA, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die Internal Control DNA kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die Internal Control DNA nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der ICD dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 4).

Wird die Internal Control DNA als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der Internal Control DNA während der Extraktion eingesetzt werden. Die Internal Control DNA soll dem Proben-PCR-Wasser-Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

9. Testdurchführung

9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positivkontrolle- und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab. 3, Tab. 4). Vor der Benutzung den **Reaction Mix**, die **Taq-Polymerase**, die **Positive Control**, die **No Template Control** und die **Internal Control DNA** auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 - 8 °C).

Tab. 3: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
	Gesamt	20 µl	220 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

Tab. 4: Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICD nur als Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	Reaction Mix,	19,3 µl	212,3 µl
2	Taq-Polymerase	0,7 µl	7,7 µl
D	Internal Control DNA	1,0 µl	11 µl
	Gesamt	21,0 µl	231,0 µl

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

9.2 Herstellung des PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

Negativkontrolle: Je 5 µl **No Template Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.**

Proben: Je 5 µl DNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Positivkontrolle: Je 5 µl **Positive Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

Hinweis: Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control DNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control DNA zum PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.**

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz zentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 5, Tab. 6, Tab. 7, Tab. 8).

9.3 Geräteeinstellungen

9.3.1 DNA real-time PCR-Profil

Tab. 5: DNA real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie und Rotor-Gene Q

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 6: DNA real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500 und CFX96™

Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.3.2 Universal real-time PCR-Profil

Hinweis: Das Universal real-time PCR Profil für DNA Tests sollte nur verwendet werden, wenn RIDA® GENE DNA und RIDA® GENE RNA real-time PCR Tests in einem Lauf kombiniert werden.

Tab. 7: Universal real-time PCR-Profil für LightCycler® Serie

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

Tab. 8: Universal real-time PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, Rotor-Gene Q und CFX96™

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

Hinweis: Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 9: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
Roche LightCycler® 2.0	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	530	RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) wird benötigt
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	465/510	RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) wird benötigt
	ICD	533/580	
ABI 7500	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none
	ICD	VIC	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	Stellen Sie den Referenzfarbstoff auf none
	ICD	HEX	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	Green	Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 (Werkseinstellung) eingestellt sein
	ICD	Yellow	
Bio-Rad CFX96™	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	-
	ICD	VIC	

10. Qualitätskontrolle

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativkontrolle und Positivkontrolle müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 10, Abb. 1).

Die Positive Control liegt für *Clostridium difficile* Toxin A/B in einer Konzentration von 10^3 Kopien/ μ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von 5×10^3 Kopien in jedem PCR Lauf eingesetzt.

Tab. 10: Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen:

Probe	Ergebnis	ICD Ct	Zielgen Ct
Positivkontrolle	Positiv	NA * ¹	Siehe Quality Assurance Certificate
Negativkontrolle	Negativ	Ct > 20	0

*¹ Ein Ct-Wert für die ICD ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.

Wenn die Positivkontrolle in dem angegebenen Ct-Bereich nicht detektiert wird, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Wenn die Negativkontrolle nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung

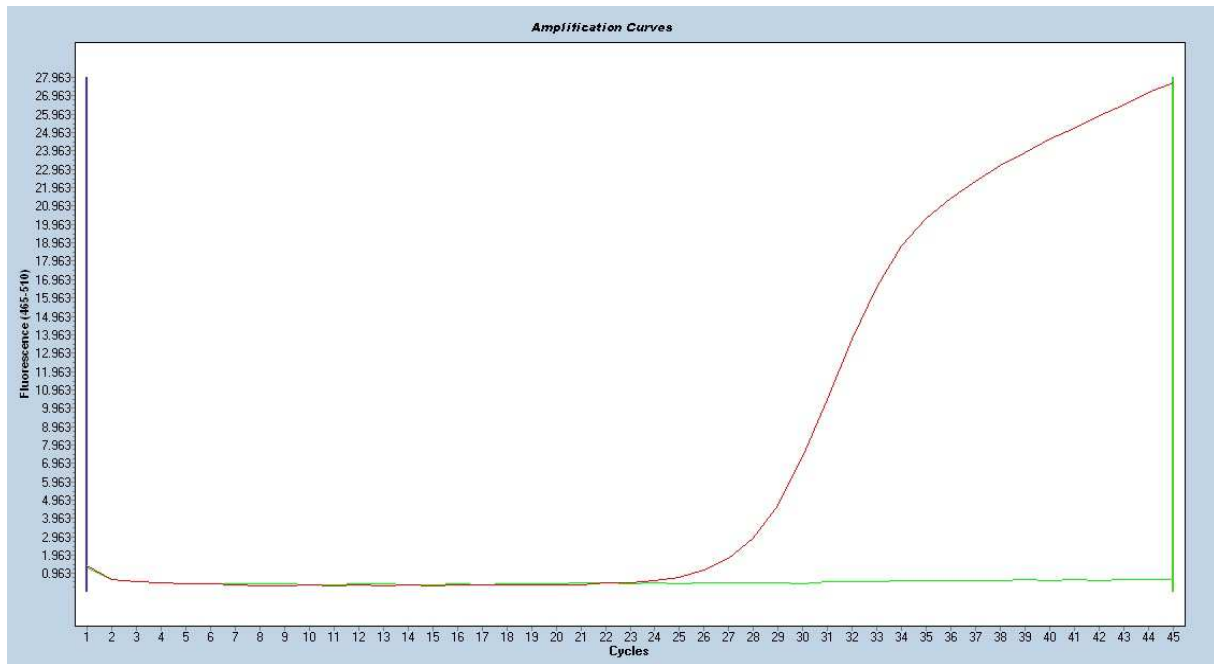


Abb.1: Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (*Clostridium difficile* Toxin-Gene A/B) auf dem LightCycler® 480II

11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 11.

Tab. 11: Interpretation der Ergebnisse

Zielgene	ICD	Ergebnis
<i>C. difficile</i> Toxin-Gene A/B		
positiv	positiv/negativ	<i>C. difficile</i> Toxin-Gene A/B nachweisbar
negativ	positiv	Zielgen nicht nachweisbar
negativ	negativ	Ungültig

Clostridium difficile Toxin A/B ist nachweisbar, wenn die Proben-DNA und die **Internal Control DNA** eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt.

Clostridium difficile Toxin A/B ist ebenfalls nachweisbar, wenn die Proben-DNA eine Amplifikation, jedoch keine Amplifikation für die **Internal Control DNA** im Nachweissystem zeigt. Der Nachweis der **Internal Control DNA** ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der internen Amplifikationskontrolle führen können.

Clostridium difficile Toxin A/B ist nicht nachweisbar, wenn die Proben-DNA keine Amplifikation, aber die **Internal Control DNA** eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der **Internal Control DNA** ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-DNA und die **Internal Control DNA** im Nachweissystem keine Amplifikation zeigt. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR-Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

12. Grenzen der Methode

1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für humane Stuhl- und Kulturproben validiert.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Erregerlast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen und mit RIDA[®] GENE CD Toxin A/B zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden *in-vitro* diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die *Clostridium difficile* Toxin-Gene A/B (*tcdA/tcdB*) vorhanden sind.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Analytische Sensitivität

Der RIDA[®] GENE CD Toxin A/B multiplex real-time PCR Test hat eine Nachweisgrenze von ≥ 10 DNA-Kopien/ Reaktion für *C. difficile* Toxin A/B.

Die folgende Abbildung 2 zeigt eine Verdünnungsreihe von *C. difficile* Toxin-Genen A/B (10^5 - 10^1 DNA Kopien/ μ l) auf dem LightCycler[®] 480II.

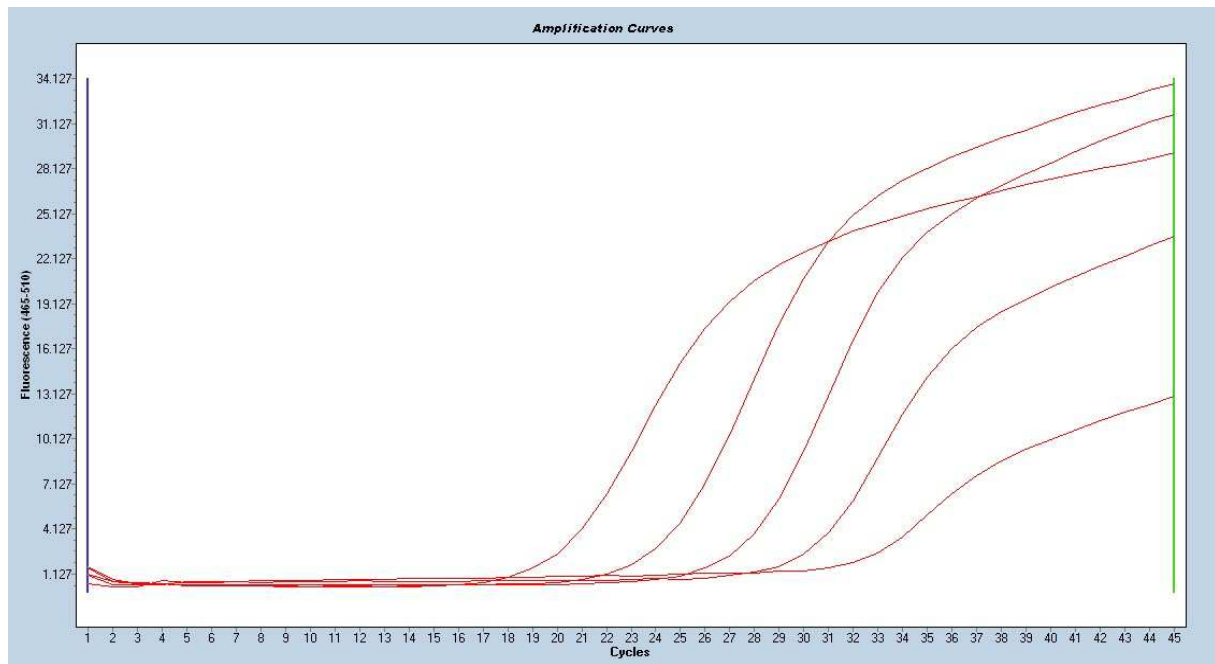


Abb. 2: Verdünnungsreihe *C. difficile* Toxin-Gene A/B (10^5 – 10^1 DNA Kopien / μ l) auf dem LightCycler[®] 480II

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von Probenmatrix, DNA-Extraktion und DNA-Gehalt.

13.2 Analytische Spezifität

Die RIDA®GENE CD Toxin A/B multiplex real-time PCR ist spezifisch für *Clostridium difficile* in humanen Stuhlproben. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 12):

Tab. 12: Kreuzreaktivitätstestung

Adenovirus 1, human, strain Adenoid 71	-	<i>Clostridium bifermentas</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-
Adenovirus 7, human, strain Gomen	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
Adenovirus 40, human, strain Dugan	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	Norovirus GGI	-
Adenovirus 41, human, strain Tak	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	Norovirus GGII	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium sordelli</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Astrovirus	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Rotavirus	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>E.coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E.coli</i> (O26:H-)	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>E.coli</i> (O6)	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland1	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone 6	-		

13.3 Analytische Reaktivität

Die Reaktivität des RIDA[®] GENE CD Toxin A/B multiplex real-time PCR Tests wurde mit *Clostridium difficile* untersucht (s. Tab. 13). Die getesteten *Clostridium difficile* Stämme wurden mit dem RIDA[®] CD Toxin A/B multiplex real-time PCR Test nachgewiesen.

Tab. 13 Analytische Reaktivitätstestung

<i>Clostridium difficile</i>					
<i>C. difficile</i> Ribotyp 001	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 023	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 075	+
<i>C. difficile</i> Ribotyp 002	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 027	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 078	+
<i>C. difficile</i> Ribotyp 012	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 046	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 0126	+
<i>C. difficile</i> Ribotyp 017	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 056	+	<i>C. difficile</i> Ribotyp 0131	+
<i>C. difficile</i> Ribotyp 020	+				
<i>C. difficile</i> toxinotype 0	+	<i>C. difficile</i> toxinotype X	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype I	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype II	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIId	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IV	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype V	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIVa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXIX	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VI	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIVb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXX	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVI	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIX	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XX	+		

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2013-01-29	Freigabeversion
2018-05-22	Generelle Überarbeitung
2018-05-22	4. Packungsinhalt 5. Reagenzien und ihre Lagerung 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9. Testdurchführung 10. Qualitätskontrolle 13. Leistungsmerkmale 14. Versionsübersicht 15. Symbolerklärung

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Nicht zutreffend

16. Literatur

1. Hall IC and O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935, 49: 390–402.
2. Bartlett JG, et al. Antibiotica-associated pseudomembranous colitis due to a toxin-producing clostridia. *N Engl J Med*, 1978; 298:531-543.
3. Bartlett JG and Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *CID* 2008, 46: S12-18.
4. Bartlett JG. Narrative Review: The new Epidemic of *Clostridium difficile*-Associated Enteric Disease. *Ann Intern Med* 2006; 145:758-764.