



Clostridium difficile Tssina A+Tossina B Combo

Test Rapido in Cassetta(Feci)

Foglietto illustrativo

REF ICDT-625 Italiano

Test diagnostico rapido in vitro per la rilevazione dell'antigene della tossina A e tossina B del Clostridium difficile nei campioni di feci umane

DESTINAZIONE D'USO

Il Test Rapido Combinato Clostridium difficile Tossina A + Tossina B è un test rapido immunocromatografico per il rilevamento qualitativo della tossina A e tossina B del Clostridium difficile nel campione di feci umane.

SOMMARIO

Clostridium difficile è un batterio anaerobico che agisce come un patogeno opportunistico: si sviluppa nell'intestino quando la flora normale è stata alterata dal trattamento con antibiotici. I ceppi tossinogenici di Clostridium difficile causano infezioni che provocano da diarrea debole alla colite pseudomembranosa, potenzialmente portando alla morte. 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, altre producono solo la Tossina B. Il ruolo potenziale di una terza (binaria) tossina nella patogenicità è ancora discusso.

PRINCIPIO

Il test rapido in cassetta del Clostridium difficile rileva due antigeni distinti per il C. difficile in campioni fecali, ossia Tossina A e Tossina B su due diverse strisce in una singola cassetta, rilevando simultaneamente due antigeni specifici di Clostridium difficile.

Per il test C. difficile-specifico Tossina A

La membrana è pre-rivestita con anticorpi anti-C.diff. Tossina A sulla regione della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con la particella rivestita con anticorpo anti-C.diff Tossina A. La miscela migra cromatograficamente lungo la membrana mediante azione capillare per reagire con l'anticorpo anti-C.diff Tossina A sulla membrana e generare una linea colorata. La presenza di questa linea colorata nella regione della linea di prova indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo.

Per il test C. difficile-specifico Tossina B

La membrana è pre-rivestita con anticorpo anti-C.diff Tossina B sulla regione della linea del test. Durante il test, il campione reagisce con la particella rivestita con l'anticorpo anti-C.diff Tossina B. La miscela migra cromatograficamente lungo la membrana mediante azione capillare per reagire con l'anticorpo anti-C.diff Tossina B sulla membrana e generare una linea colorata. La presenza di questa linea colorata nella regione della linea del test indica un risultato positivo, mentre la sua assenza indica un risultato negativo.

Quale controllo procedurale, una linea colorata apparirà sempre nella regione della linea di controllo di tutte e tre le strisce del test, indicando che è stato aggiunto il giusto volume di campione e la migrazione lungo la membrana è avvenuto correttamente.

REAGENTI

Il test contiene oro-coniugati con anti-Clostridium difficile Tossina A e anti-Clostridium difficile Tossina B che si legano con anti-Clostridium difficile Tossina A e anti-Clostridium difficile Tossina B sulla membrana.

PRECAUZIONI

- Solo per uso diagnostico professionale in vitro. Non utilizzare dopo la data di scadenza.
- Il test dovrebbe rimanere nella busta sigillata fino all'uso.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui vengono trattati i campioni o i kit.
- Maneggiare tutti i campioni come se contenessero agenti infettivi. Osservare le precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici in tutte le procedure e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.
- Indossare indumenti protettivi come camici di laboratorio, guanti monouso e protezione degli occhi quando vengono esaminati i campioni.
- Il test, dopo l'uso, dovrebbe essere smaltito secondo le normative locali.
- Umidità e temperatura possono influenzare negativamente i risultati.

STOCCAGGIO E STABILITÀ

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

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEL CAMPIONE

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

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

MATERIALI

- Materiali forniti**
- Test in cassetta
 - Istruzioni per l'uso
 - Provetta di raccolta campioni con buffer
 - Pipetta
- Materiali richiesti ma non forniti**
- Contenitore raccolta feci

PROCEDURA

Lasciare che il test, il campione, il tamponcino di raccolta e/o il controllo si portino a temperatura ambiente (15-30 ° C) prima di eseguire il test.

1. Raccolta di campioni fecali:

Raccogliere quantità sufficienti di feci (1-2mL o 1-2g) in un contenitore di raccolta del campione pulito e asciutto per ottenere sufficienti antigeni (se presenti). I migliori risultati saranno ottenuti se il test viene eseguito entro 6 ore dalla raccolta. Il campione raccolto può essere conservato per 3 giorni a 2-8 °C se non è stato testato entro 6 ore. Per lo stoccaggio a lungo termine, i campioni devono essere mantenuti al di sotto di -20 ° C.

2. Per la manipolazione di campioni fecali:

- Per i campioni solidi:

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

- Per i campioni liquidi:

Tenere il contagocce verticalmente, aspirare i campioni fecali e trasferire 2 gocce del campione liquido (circa 80 µL) nel tubo di raccolta del campione contenente il tamponcino di estrazione.

Chiudere il tappo sul tubo di raccolta del campione, quindi agitare energicamente il tubo di

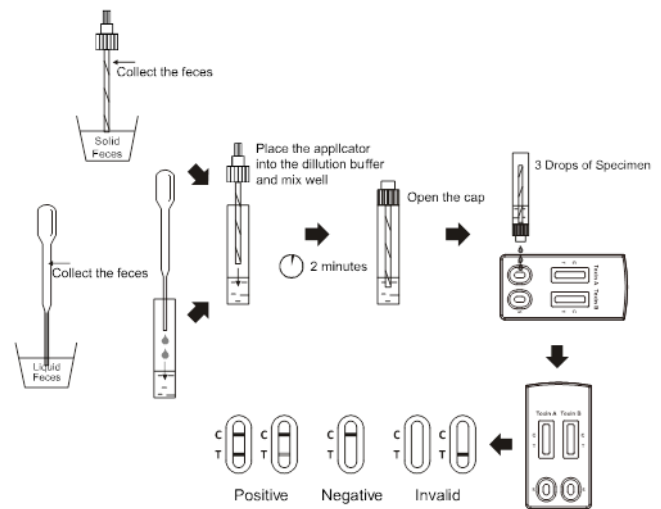
raccolta del campione per mescolare il campione e il tamponcino di estrazione. Lasciare reagire il tubo di raccolta per 2 minuti.

3. Portare la busta con il test a temperatura ambiente prima di aprirla. Rimuovere la cassetta dalla busta e utilizzarla al più presto. I migliori risultati saranno ottenuti se la prova viene eseguita immediatamente dopo l'apertura della busta.

4. Tenere il tubo di raccolta del campione in posizione verticale e svitare la punta del tubo di raccolta del campione. Invertire il tubo di raccolta del campione e trasferire 3 gocce complete del campione estratto (circa 120 µL) in ogni pozzetto del campione della cassetta, quindi avviare il timer. Evitare la formazione di bolle d'aria nel pozzetto del campione (S). Vedi illustrazione di seguito.

5. Leggere i risultati a 10 minuti dopo l'erogazione del campione. Non leggere i risultati dopo 20 minuti.

6. Nota: se il campione non migra (presenza di particelle), centrifugare il campione diluito contenuto nel tubo del tamponcino di estrazione. Raccogliere 120 µL di supernatante, distribuire nel pozzetto del campione (S). Avviare il timer e continuare dal punto 5 in avanti nelle istruzioni per l'uso.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

I risultati del test vengono visualizzati in due diverse finestre rispettivamente per Tossina A e Tossina B. I criteri di interpretazione restano uguali per la positività o la negatività per antigeni specifici secondo l'indicazione della rispettiva finestra di prova. I risultati vanno interpretati come segue:

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

* NOTA: L'intensità del colore nella regione della linea del test (T) varia a seconda della concentrazione di antigeni di Clostridium difficile presenti nel campione. Pertanto, qualsiasi ombra colorata nella regione della linea del test (T) dovrebbe essere considerata positiva.

NEGATIVO: una linea colorata viene visualizzata nella regione della linea di controllo (C). Nessuna linea viene visualizzata nella regione della linea del test (T).

INVALIDO: la linea di controllo (C) non viene visualizzata. Il volume del campione non sufficiente o le tecniche procedurali non corrette sono i motivi più probabili per la non comparsa della linea di controllo. Esaminare la procedura e ripetere la prova con una nuova cassetta. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'uso del kit e contattare il proprio distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Un controllo procedurale interno è incluso nel test. Una linea colorata che compare nella regione della linea di controllo (C) è un controllo procedurale positivo interno. Conferma il volume sufficiente del campione, l'adeguata membrana e la tecnica corretta.

Gli standard di controllo non sono forniti con questo kit; tuttavia, si consiglia di utilizzare i controlli positivi e negativi come una buona pratica di laboratorio per confermare la procedura e per verificare che le prestazioni del test siano corrette.

LIMITAZIONI

1. Il test rapido in cassetta Clostridium difficile Tossina A + Tossina B Combo(Feci) è solo per uso diagnostico in vitro.

2. Il test è qualitativo e non è in grado di rilevare la quantità di antigeni presenti nel campione. La diagnosi deve essere presa in considerazione per la presentazione clinica e per altri risultati.

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

VALORI ATTESI

Nei campioni fecali di un individuo sano, il test di Clostridium difficile dovrebbe dare risultati negativi per ciascuno degli antigeni testati. Il Test rapido in cassetta Clostridium difficile Tossina A + Tossina B Combo(Feci) è stato confrontato con un altro test rapido commerciale. La correlazione tra due sistemi è del 98,5% per C.diff Toxin A + Toxin B.

PRESTAZIONE

Limite di rilevazione

I valori limite di rilevazione del Test Rapido in cassetta Clostridium difficile Tossina A + Tossina B sono 2ng/ml per Tossina A e 1ng/ml per Tossina B.

Sensibilità - specificità

Metodo		Altro Test Rapido		Totale Risultati
Test Rapido in Cassetta Clostridium difficile Tossina A +Tossina B (Feci)	Risultati	Positivi	Negativi	
	Positivi	56	2	58
	Negativi	1	141	142
Totale Risultati		57	143	200

Sensibilità relativa: 98.2% (95%CI:*90.6%-99.9%)

Specificità relativa: 98.6% (95%CI:*95.0%-99.8%)

Accuratezza relativa: 98.5% (95%CI:*95.7%-99.7%)

* Intervalli di confidenza

Ripetibilità e riproducibilità

Per verificare la precisione 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 controllare l'accuratezza inter-batch (riproducibilità), alcuni campioni (positivi e buffer) sono stati testati su kit di tre diversi lotti di produzione. Tutti i risultati sono stati confermati come previsto.

Reazione crociata

Una valutazione è stata condotta per determinare la reattività crociata del Test Rapido in Cassetta Clostridium difficile GDH + Tossina A + Tossina B (Feci). Nessuna reazione trasversale contro i seguenti patogeni gastrointestinali occasionalmente presenti:

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

REFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- Ramadas Balamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: *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 suppl 6, 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

Indice dei Simboli

	Attenzione, leggere le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentante Autorizzato
	Solo per uso diagnostico in vitro		Usare entro		Non riutilizzare
	Stoccare tra 2-30°C		Lotto		Numero di catalogo
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata				

ACRO Biotech, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.

MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany



Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo

Rapid Test Cassette(Feces)

Package Insert

REF ICDT-625 | English

An IVD rapid test for the detection of Clostridium difficile Toxin A and Toxin B antigens in human feces samples

For professional use only.

INTENDED USE

The Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette (Feces) is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Clostridium difficile Toxin A and Toxin B antigens in the human feces specimen.

SUMMARY

Clostridium difficile is an anaerobic bacteria acting as an opportunistic pathogen: it grows in the intestine when the normal flora has been altered by treatment with antibiotics. Toxinogenic strains of Clostridium difficile cause infections from mild-diarrhea to pseudomembranous colitis, potentially leading to death.

Disease is caused by two toxins produced by toxinogenic strains of C.difficile: Toxin A (tissue-damaging enterotoxin) and Toxin B (cytotoxin). Some strains produce both toxins A and B, some others produce Toxin B only. The potential role of a third (binary) toxin in pathogenicity is still debated.

PRINCIPLE

Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette detects two distinct antigens in fecal specimens for C. difficile, viz., Toxin A and Toxin B on two different test strips in a single test cassette, thus simultaneously detecting two antigens specific to Clostridium difficile.

C. difficile-specific Toxin A Testing

The membrane is pre-coated with anti-C.diff Toxin A antibody and anti-C.diff Toxin A antibody on the test line region. During testing, the specimen reacts with the particle coated with anti-C.diff Toxin A antibody. The mixture migrates upward on the membrane chromatographically by capillary action to react with anti-C.diff Toxin A antibody on the membrane and generate a colored line. The presence of this colored line in the test line region indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. To serve as a procedural control, a colored line will always appear in the control line region, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

C. difficile-specific Toxin B Testing

The membrane is pre-coated with anti-C.diff Toxin B antibody and anti-C.diff Toxin B antibody on the test line region. During testing, the specimen reacts with the particle coated with anti-C.diff Toxin B antibody. The mixture migrates upward on the membrane chromatographically by capillary action to react with anti-C.diff Toxin B antibody on the membrane and generate a colored line. The presence of this colored line in the test line region indicates a positive result, while its absence indicates a negative result. To serve as a procedural control, a colored line will always appear in the control line region, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

REAGENTS

The test cassette contains anti-Clostridium difficile Toxin A and anti-Clostridium difficile Toxin B particles gold conjugate pair with anti-Clostridium difficile Toxin A and anti-Clostridium difficile Toxin B coated on the membrane.

PRECAUTIONS

- For professional in vitro diagnostic use only. Do not use after expiration date.
The test should remain in the sealed pouch until use.
Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled.
Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions against microbiological hazards throughout all procedures and follow the standard procedures for proper disposal of specimens.
Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are assayed.
The used test should be discarded according to local regulations.
Humidity and temperature can adversely affect results.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged at room temperature or refrigerated (2-30°C). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. DO NOT FREEZE. Do not use beyond the expiration date

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

The stool specimens must be tested as soon as possible after collection. If necessary, original feces specimen may be stored at 2-8°C for 3 days or -20°C for longer periods of time; extracted specimen in buffer may be stored at 2-8°C for 1 week or -20°C for longer periods of time. Make sure that the specimens are not treated with solutions containing formaldehyde or its derivatives.

MATERIAL

Materials provided

- Test Cassettes
Package Insert
Specimen collection tube with buffer
Droppers

Materials required but not provided

- Stool Container

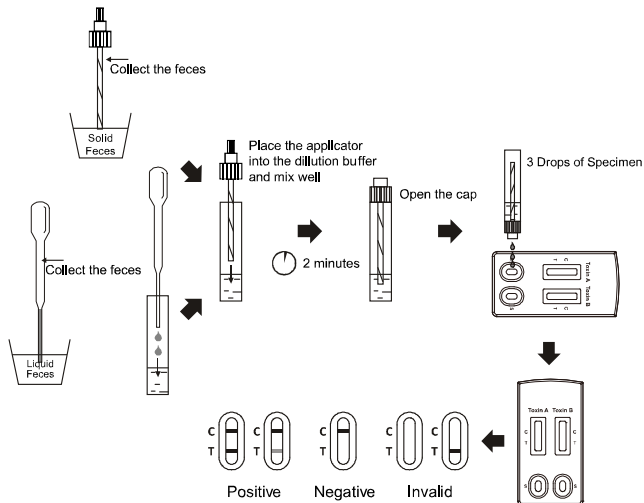
PROCEDURE

Allow the test, specimen, stool collection buffer and/or control to equilibrate to room temperature (15-30°C) prior to testing.

SPECIMEN PREPARATION PROCEDURE:

- To collect fecal specimens:
Collect sufficient quantity of feces (1-2mL or 1-2g) in a clean, dry specimen collection container to obtain enough antigens (if present). Best results will be obtained if the assay is performed within 6 hours after collection. Specimen collected may be stored for 3 days at 2-8°C if not tested within 6 hours. For long term storage, specimens should be kept below -20°C.
To process fecal specimens:
For Solid Specimens:
Unscrew the cap of the specimen collection tube, then randomly stab the specimen collection applicator into the fecal specimen at least 3 different sites to collect approximately 50 mg of feces (equivalent to 1/4 of a pea). Do not scoop the fecal specimen.

- For Liquid Specimens:
Hold the dropper vertically, aspirate fecal specimens, and then transfer 2 drops of the liquid specimen (approximately 80 µL) into the specimen collection tube containing the extraction buffer.
Tighten the cap onto the specimen collection tube, then shake the specimen collection tube vigorously to mix the specimen and the extraction buffer. Leave the collection tube for reaction for 2 minutes.
Bring the pouch to room temperature before opening it. Remove the test cassette from the foil pouch and use it as soon as possible. Best results will be obtained if the test is performed immediately after opening the foil pouch.
Hold the specimen collection tube upright and unscrew the tip of the specimen collection tube. Invert the specimen collection tube and transfer 3 full drops of the extracted specimen (approximately 120µL) to the specimen well (S) of the test cassette, then start the timer. Avoid trapping air bubbles in the specimen well (S). See illustration below.
Read the results at 10 minutes after dispensing the specimen. Do not read results after 20 minutes.
Note: If the specimen does not migrate (presence of particles), centrifuge the diluted sample contained in the extraction buffer vial. Collect 120µL of supernatant, dispense into the specimen well (S). Start the timer and continue from step 5 onwards in the above instructions for use.



INTERPRETING RESULTS

The results are to be interpreted as follows:
POSITIVE: Two distinct colored lines appear. One colored line should be in the control line region (C) and another apparent colored line should be in the test line region (T).
NOTE: The intensity of the color in the test line region (T) will vary depending on the concentration of Clostridium difficile antigen present in the specimen. Therefore, any shade of color in the test line region (T) should be considered positive.
NEGATIVE: One colored line appears in the control line region (C). No line appears in the test line region (T).
INVALID: Control line (C) fails to appear. Insufficient specimen volume or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.

QUALITY CONTROL

An internal procedural control is included in the test. A colored line appearing in the control line region (C) is an internal positive procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique. Control standards are not supplied with this kit; however, it is recommended that positive and negative controls be tested as a good laboratory practice to confirm the test procedure and to verify proper test performance.

LIMITATION

- The Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette (Feces) is for in vitro diagnostic use only.
The test is qualitative and cannot predict the quantity of antigens present in the sample. Clinical presentation and other test results must be taken into consideration to establish diagnosis.
A positive test does not rule out the possibility that other pathogens may be present.

EXPECT VALUE

In a healthy individual's fecal specimens, Clostridium difficile test should give negative test result for any of the antigens tested. The Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette (Feces) has been compared with another leading commercial rapid test. The correlation between two systems is 98.5% for C. diff Toxin A+Toxin B.

PERFORMANCE

Detection Limit

Detection limit values of Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette was 2ng/ml for Toxin A and 1ng/ml for Toxin B.

Sensitivity - Specificity

Table with 5 columns: Method, Results, Positive, Negative, Total Results. Rows include Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette (Feces) and Total Results.

Relative Sensitivity: 98.2% (95%CI: 90.6%-99.9%)
Relative Specificity: 98.6% (95%CI: 95.0%-99.8%)
Relative Accuracy: 98.5% (95%CI: 95.7%-99.7%)

Repeatability and reproducibility

To check intra-batch accuracy (repeatability), the same positive samples and abuffer solution were processed 15 times on kits of the same production batch in the same experimental conditions. All observed results were confirmed as expected to check inter-batch accuracy (reproducibility), some samples (positive and buffer) were processed on kits from three different production batches. All results were confirmed as expected.

Cross Reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Combo Rapid Test Cassette (Feces). No cross reactivity against gastrointestinal pathogens occasionally present as follows:

Table listing cross-reactivity results for various bacteria like Salmonella enteritidis, Campylobacter coli, etc.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- Ramadass Balamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: 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

Index of Symbols

Table with 4 columns: Symbol, Description, EC REP, Authorized Representative. Includes symbols for attention, IVD, storage, and lot number.



ACRO Biotech, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.



EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Muenster
Germany