

VERWENDUNGSZWECK

Das Prolisa™ *C. difficile* GDH-EIA ist ein Mikrowell-Assay für den qualitativen Nachweis der Glutamatdehydrogenase (GDH) des *Clostridium difficile* in Stuhlproben. Das Prolisa™ *C. difficile* GDH-EIA ist zur Unterstützung einer Diagnose bei Infektionen mit *C. difficile* gedacht. Dieser Test weist die GDH nach und differenziert nicht zwischen toxischen und nicht-toxischen Stämmen von *C. difficile*. Wie andere Tests auf *C. difficile* sollten auch diese Ergebnisse im Zusammenhang mit der Krankengeschichte des Patienten und weiteren Laboruntersuchungen betrachtet werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG
Mechanismus der Erkrankung

Das *Clostridium difficile* ist ein anaerobes Sporenbildendes Stäbchenbakterium, das zwei klinisch bedeutende Toxine, das sogenannte Toxin A und Toxin B, produziert, das im Darm lokal Gewebeschäden hervorruft, die zu einer pseudomembranösen Colitis führen können. Toxisches *C. difficile* kann asymptomatisch bei gesunden Trägern vorkommen, allerdings können aus einer Überwucherung mit *C. difficile* aufgrund einer antimikrobiellen Therapie schwere Folgeerkrankungen resultieren. Ausbrüche von *C. difficile*-assoziierten Erkrankungen in Gesundheitseinrichtungen werden häufig durch Ingestion der säureresistenten Sporen in der Umgebung verursacht. *Clostridium difficile*-Stämme, die weder Toxin A noch Toxin B produzieren, werden als nicht-pathogen eingestuft (1).

Diagnose der Erkrankung

Clostridium difficile-assoziierte Erkrankungen werden anhand einer Kombination aus klinischen und mikrobiologischen Befunden diagnostiziert. Der Goldstandard für die mikrobiologische Differenzierung einer toxischen *C. difficile*-Infektion ist die zytotoxische Zellkultur, ein Test, bei dem *C. difficile*-Isolate aus selektiven Differenzierungsagar in Bouillon angereichert und dann auf die Entstehung von Toxin B mit einem Zytotoxizitätsassay mit kultivierten Zellen getestet werden (2). Zum Nachweis von Toxin A und/oder Toxin B in Stuhlproben wurden Immunoassay-Schnelltests entwickelt, die allerdings nur geringe Empfindlichkeit zeigen (3). Es wurden Immunoassays auf GDH, ein Protein, das das toxische und nicht-toxische *C. difficile* besitzt, entwickelt und in Algorithmen zur Differenzierung des toxischen *C. difficile* integriert. Es wurde nachgewiesen, dass toxisches *C. difficile* effektiver und kosteneffizienter festgestellt werden kann, indem man zunächst auf GDH und dann auf Toxin A und/oder Toxin B testet anstatt nur auf die Toxine zu testen (3).

TESTPRINZIP

Der Prolisa™ *C. difficile* GDH-EIA ist ein Sandwich-Immunoassay, das für die Erkennung der *C. difficile*-GDH spezifische Antikörper verwendet. Die Mikrotiterstreifen enthalten immobilisierte monoklonale Antikörper von der Maus und das Immunkonjugat enthält mit Meerrettichperoxidase konjugierte polyklonale Antikörper vom Kaninchen. Zur Testdurchführung wird zunächst etwas Stuhlprobe gut in Verdünnungsmittel suspendiert, um eine für den Test geeignete Probe zu erhalten. Ein Teil dieser Probe und das Immunkonjugat werden dann gleichzeitig in einem Well mit immobilisiertem monoklonalem Antikörper inkubiert. Bei Anwesenheit von GDH in der Probe wird ein unlöslicher Antikörper-Enzym-Komplex gebildet, der schwer aus den Wells auszuwaschen ist. Nach dem Waschen der Wells, um ungebundenes Material zu entfernen, wird das gebundene Enzym anhand eines chromogenen Substrats nachgewiesen.

MITGELIEFERTER MATERIALIEN

Komponente	Kat. Nr.	Je Kit	Beschreibung	Anmerkung
Beschichtete und stabilisierte Platte	PL.2115	1 Platte / Beutel	Mikrotiterwells beschichtet mit monoklonalem Antikörper von der Maus gegen GDH	Jeder Beutel enthält 1 Platte mit einem Deckelsiegel und 2 Trockenmitteln.
Probenverdünnungsmittel	PL.2113	2 x 30 ml	Eine proteinfreie Lösung mit Konservierungsmittel	Weißer Flasche
Positivkontrolle	PL.2112	1 x 2,5 ml	Rekombinantes GDH in einer gepufferten Proteinlösung mit Konservierungsmittel	Tropfflasche mit blauer Verschlussklappe
Immunkonjugat	PL.2114	1 x 7 ml	Polyklonaler Anti-GDH-Antikörper vom Kaninchen an Meerrettichperoxidase konjugiert	Tropfflasche mit roter Verschlussklappe
20fach konz. Waschpuffer	PL.2110	2 x 25 ml	Konzentrierter Puffer mit Detergens und 0,1% Gew./Vol. Thimerosal	Weißer Flasche
Substratlösung	PL.2104	1 x 14 ml	3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin in einem leicht sauren Puffer	Braune Flasche
Stopplösung	PL.2103	1 x 14 ml	0,2 N Schwefelsäure	Tropfflasche mit gelber Verschlussklappe
Plattendeckelsiegel	nicht zutreffend	3	---	---
Transferpipette	nicht zutreffend	100 in 4 Beuteln	---	---
Gebrauchsanweisung	nicht zutreffend	1	---	---

NOTWENDIGE, NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

1. Applikatorstäbchen aus Holz oder Öse
2. Zeitschaltuhr
3. Pipette mit Abgabekapazität von 50 µl bis 1000 µl
4. Pipettenspitzen
5. Teströhrchen (12 X 75 mm oder ähnliches Produkt) zur Probenverdünnung
6. Destilliertes oder entionisiertes Wasser
7. Spritzflasche oder eine Tellerfeder oder ein automatisiertes EIA-System
8. Graduierter Zylinder
9. EIA-Plattenleser mit 450/630-nm Absorptionsmessfähigkeit oder ein automatisiertes EIA-System.
10. Vortex-Schüttelgerät
11. Zentrifuge

STABILITÄT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Das Kit bei 2-8 °C lagern (20fach konz. Waschpuffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden). Nach jedem Gebrauch das Kit sofort wieder in den Kühlschrank bei 2-8 °C zurückstellen. 1fach konz. Waschpuffer kann für bis zu 1 Monat bei Raumtemperatur gelagert werden.

VORSICHTSHINWEISE

1. Nur für den Gebrauch in der *In-vitro*-Diagnostik.
2. Proben können Infektionserreger enthalten und sollten mit Sicherheitsstufe 2 behandelt werden.
3. Alle Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig mischen.
4. Waschpuffer kann sich bei Lagerung in Schichten absetzen. Vor Gebrauch gut schütteln.
5. Reagenzien von Kits verschiedener Chargennummern nicht untereinander austauschen.
6. Das Substrat ist lichtempfindlich. Nicht dem Licht aussetzen.
7. Reagenzgefäße in ausreichender Entfernung senkrecht über dem Well halten, um eine korrekte Tropfengröße und -abgabe zu gewährleisten.
8. Kitkomponenten nicht über das auf dem Etikett aufgedruckte Verfallsdatum hinaus verwenden.
9. Gebrauchten Waschpuffer und alle Testmaterialien gemäß der anwendbaren Bestimmungen für potenzielle biologische Gefahrenstoffe entsorgen.
10. Hautkontakt mit der Stopplösung vermeiden, sie enthält 0,2 N Schwefelsäure. Bei Kontakt mit Haut oder Augen sofort mit Wasser ausspülen.
11. Mikrowells nicht wieder verwenden.
12. Nicht gebrauchte, über einen längeren Zeitraum der Luft ausgesetzte Mikrowells können die Testergebnisse beeinträchtigen. Es ist wichtig, bei der Lagerung die Streifen vor Feuchtigkeit zu schützen, indem nicht verwendete Streifen wieder in den Beutel zurückgegeben werden.
13. Transferpipetten nicht für mehr als einen Patienten verwenden.
14. Bei der Probenabgabe in ein Mikrowell Verspritzen vermeiden, indem die Spitze der Transferpipette zur Hälfte in das Well gehalten und die Lösung entlang der Wand abgegeben wird.
15. Die Wells der Streifen genau nach Gebrauchsanweisung waschen. Unzureichendes Waschen kann die Hintergrundwerte erhöhen und zu falsch positiven Ergebnissen führen.
16. Abweichungen von den angegebenen Inkubationszeiten könnten die Testleistung beeinträchtigen. Für diesen Test wurden alle Parameter optimiert. Abweichungen vom Testprotokoll können sich auf die Ergebnisse auswirken.
17. Das Produkt enthält Materialien tierischer Herkunft und sollte wie ein potenzieller Träger und Überträger von Krankheiten gehandhabt werden.
18. Für diesen Test können nur Stuhlproben ohne Konservierungsstoffe verwendet werden.
19. Kratzer auf den Mikrowells vermeiden, da Kratzer die Absorptionsmessung beeinträchtigen können.
20. Es ist beobachtet worden, dass stark positive Proben die angrenzenden Mikrowells kontaminieren und damit zu falsch positiven Testergebnissen führen können. Es wird daher empfohlen, schwach positive Proben, die unmittelbar neben stark positiven Proben auftreten, erneut zu testen.

REAGENZENVORBEREITUNG

1. Stellen Sie aus dem 20fach konzentrierten Waschpuffer einen einfach konzentrierten Waschpuffer her, indem das gelieferte Konzentrat mit 950 ml destilliertem oder entionisiertem Wasser gemischt wird.
2. Vor Gebrauch das gesamte Kit einschließlich des Plattenbeutels auf Raumtemperatur bringen.

PROBENAUFBEWAHRUNG

Stuhlproben, die innerhalb von 2 Stunden nach Entnahme getestet werden, müssen nicht gekühlt werden. Alle anderen Proben müssen bei 2-8 °C aufbewahrt und nach Möglichkeit innerhalb von 24 bis 48 Stunden untersucht werden. Falls Proben nicht innerhalb von 48 Stunden nach Entnahme getestet werden können, müssen diese bei ≤ -20 °C eingefroren werden (4). Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben vermeiden, da es zu fehlerhaften Testergebnissen führen kann.

PROBENVORBEREITUNG FÜR DIE MANUELLE VERWENDUNG

1. Geben Sie 300 µl Probenverdünnungsmittel in ein Probenröhrchen.
2. In das Probenröhrchen 100 µl ungeformten oder ca. 20 µl harten Stuhl (entspricht einer sphärischen Masse mit einem Durchmesser von ungefähr 4 mm) geben.
3. Das Probenröhrchen für 10 Sekunden vortexen, um die Probe im Probenverdünnungsmittel gründlich zu emulgieren. Probe sofort nach der Vorbereitung testen.
4. Wenn die Platte mit einem automatischen Plattenwaschgerät gewaschen werden soll, die Proben bei ~5000 x g für 10 Minuten (oder bis die Schwebstoffe Pellets bilden) zentrifugieren, bevor der Probenüberstand in die Testwells gegeben wird. Große Schwebteile in den Proben können das automatische Plattenwaschen stören.

PRÜFPROTOKOLL FÜR DIE MANUELLE VERWENDUNG

1. Schneiden Sie den wieder verschließbaren Folienbeutel auf und entnehmen ihm vorsichtig eine Testplatte.
2. Entfernen Sie das Dichtungsband von den Mikrotiterstreifen. Geben Sie nicht gebrauchte Wells in den Beutel zurück, verschließen ihn und legen ihn wieder bei 2-8 °C in den Kühlschrank zurück.
3. Geben Sie je 1 Tropfen (~50 µl) des Immunkonjugats in die Wells.
4. Geben Sie mit einer Transferpipette 100 µl (gleich dem ersten Kalibrationspunkt der Pipette) verdünnte Probe sowie 100 µl der Positivkontrolle und 100 µl Probenverdünnungsmittel (Negativkontrolle) in die entsprechenden Wells.
5. Inkubieren Sie die Platte ohne zu schütteln 60 Minuten bei Raumtemperatur. Alternativ kann die Platte auf dem Schüttler bei 1000 rpm für 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert werden.
6. Die Proben/Kontrollen aus dem/den Streifen entfernen und die Vertiefungen 5-7 mal mit 1X Waschpuffer auswaschen.

Option 1

- Verwerfen Sie den Platteninhalt in einen geeigneten Behälter für infektiösen Abfall.
- Klopfen Sie die umgedrehte Platte fest auf saubere Lagen Papiertücher aus.
- Füllen Sie alle Wells vollständig mit 1fach konzentriertem Waschpuffer. Verwenden Sie dafür eine Spritzflasche.
- Waschzyklus (entfernen, schlagen, füllen) 4-6 weitere Male wiederholen.
- Nach der letzten Füllung den Inhalt verwerfen und die Platten fest auf eine neue Lage Papiertücher ausklopfen, um allen überschüssigen Puffer zu entfernen.

Option 2

- Waschen Sie die Platte 5-7 Mal mit einem automatischen Plattenwaschgerät. Dabei die Wells mit 300 µl 1fach konzentrierten Waschpuffer füllen.
7. In jede Vertiefung 100 µl Substratlösung geben, leicht gegen den

Plattenhalter schlagen und bei Zimmertemperatur 10 Minuten lang inkubieren.

8. Geben Sie 3 Tropfen (~100 µl) Stopplösung in die Wells und klopfen leicht gegen die Plattenhalterung, um zu gewährleisten, dass der Inhalt gut gemischt ist.
9. Lesen Sie die Testergebnisse innerhalb von 10 Minuten nach Abschluss von Schritt 8 ab. Achten Sie darauf, dass die Unterseite der Wells sauber und trocken ist. Verwenden Sie ggf. ein fusselfreies Tuch, um die Unterseite abzuwischen.
10. Bei einer OD von 450/630 nm in einem Mikrotiterplattenfotometer messen.

PROBENVORBEREITUNG FÜR DIE AUTOMATISIERTE VERWENDUNG

1. Geben Sie 600 µl Probenverdünnungsmittel in ein Probenröhrchen, das durch ein automatisiertes EIA-System bereitgestellt wird, oder in ein äquivalentes Röhrchen.
 2. Füllen Sie 200 µl ungeformte Fäkalien oder ungefähr 40 µl feste Fäkalien in das Probenröhrchen um.
 3. Decken Sie die Probenfläschchen ab und schütteln Sie das Probenröhrchen 10 Sekunden lang, damit die Probe in dem Probenverdünnungsmittel gründlich emulgiert.
 4. Zentrifugieren Sie die Proben 10 Minuten lang bei mindestens 5000 x g bei Zimmertemperatur.
- Hinweis: Wenn für ein bestimmtes Probenfläschchen 5000 x g in einer Zentrifuge nicht verfügbar ist, sollte eine längere Zentrifugationszeit angewendet werden (z. B. 3000 x g 20 Minuten lang).*
5. Stören Sie die Probenröhrchen nicht und stellen Sie die Probenröhrchen in eine angemessene Position im automatisierten EIA-System.

PRÜFPROTOKOLL FÜR DIE AUTOMATISIERTE VERWENDUNG

1. Schneiden Sie den wiederverschließbaren Folienbeutel auf und entfernen Sie vorsichtig die Assay-Platte aus dem Beutel.
2. Entfernen Sie das Dichtungsband von den Stripwell-Platten. Stecken Sie die zusätzlichen Nüpfchen wieder in den Beutel, verschließen Sie den Beutel und lagern Sie ihn wieder bei 2-8°C. Bringen Sie die erforderlichen Streifen mit dem Halter im automatisierten System in angemessene Position.
3. Bereiten Sie eine angemessene Menge von 1X Waschpuffer vor, indem Sie 20X Waschpuffer in destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen. Füllen Sie den 1X Waschpuffer in einen passenden Behälter in das automatisierte System um.

Lesen Sie sich sorgfältig die Bedienungsanleitung des automatisierten EIA-Systems durch. Stellen Sie ein Programm für den Betrieb von Prolisa™ C. *difficile* GDH EIA im automatisierten EIA-System entsprechend der folgenden Richtlinien ein (Schritte 4 - 11). Bei Fragen bezüglich des Einstellens eines Programms in einem automatisiertem EIA-System wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Pro-Lab Diagnostics.

4. Füllen Sie angemessene Mengen des Immunkonjugats, der Substratlösung und der Stopplösung in Behälter um, die mit dem System bereitgestellt werden, und bringen Sie sie in angemessene Positionen im System.
5. Übertragen Sie 50 µl des Immunkonjugats in jedes Nüpfchen.
6. Übertragen Sie 100 µl der positiven Kontrolle und 100 µl des Probenverdünnungsmittels (Negativkontrolle) in die entsprechenden Nüpfchen. Übertragen Sie 100 µl der verdünnten Probe in die Nüpfchen.
7. Bebrüten Sie die Platte 60 Minuten lang bei Zimmertemperatur ohne zu schütteln.
8. Aspirieren Sie die Proben/Kontrollen von dem/den Streifen und waschen Sie die Nüpfchen 5 Mal mit 1X Waschpuffer.
9. Übertragen Sie 100 µl der Substratlösung in jedes Nüpfchen und bebrüten Sie 10 Minuten lang bei Zimmertemperatur.
10. Übertragen Sie 100 µl der Stopplösung in die Nüpfchen und schütteln Sie kurz die Platte.

11. Messen Sie OD450/630nm im automatisierten System innerhalb von 10 Minuten nach Schritt 10.

Befolgen Sie die Wartungs- und Betriebsanleitung des automatisierten EIA-Systems. Führen Sie einen Test der Prolisa™ C. *difficile* GDH EIA-Ausrüstung im automatisierten EIA-System durch und analysieren Sie die Daten im System.

Hinweis:

- Wenn ein Wellenlängenfilter von 630 nm in dem automatisierten EIA-System nicht verfügbar ist, stellen Sie eine doppelte Wellenlänge von 450 nm / 620 nm ein.
- Es wird empfohlen, dass die positive Kontrolle und die negative Kontrolle in die Nüpfchen A1/B1 und C1/D1 doppelt hinzugefügt wird. Der Durchschnitt der OD-Messwerte der positiven Kontrolle muss höher als 0,800 sein und der Durchschnitt der OD-Messwerte der negativen Kontrolle muss niedriger als 0,100 sein.
- Es wird empfohlen, dass eine "Wäsche mit fünf (5) Zyklen mit 300 µl 1X Waschpuffer in jedem Nüpfchen" in dem laufenden Programm für ein automatisiertes EIA-System enthalten ist. Es können jedoch in unterschiedlichen automatisierten Systemen mehr Waschzyklen (> 5) erforderlich sein.

QUALITÄTSKONTROLLE

Bei jedem Testlauf müssen die Positiv- und Negativkontrollen mitgeführt werden, um die Qualität der Reagenzien und des Testverfahrens zu gewährleisten.

1. Die Positivkontrolle muss bei 450/630 nm > 0,800 betragen.
2. Die Negativkontrolle muss bei 450/630 nm < 0,100, doch über 0,000 betragen. Falls die Negativkontrolle <0,000 ist, erneut den Leerwert gegen Luft messen und die Platte noch einmal ablesen.
3. Ein Well, das optisch nicht positiv (gelb) ist, doch ein positives Ergebnis zeigt, an der Unterseite abwischen, neu einsetzen und ablesen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Spektrofotometrische duale Wellenlänge (450/630 nm)

- Negativ = OD 450/630 nm < 0,100
- Positiv = OD 450/630 nm ≥ 0,100

Ein positives Ergebnis weist auf GDH in der Probe hin. Ein negatives Ergebnis gibt an, dass sich kein GDH in der Probe befindet bzw. dass das GDH unter dem mit diesem Test nachweisbaren Wert liegt.

Proben mit einem hohen Anteil an GDH können nach Zugabe der Stopplösung ein sichtbares schwarzes Präzipitat aufweisen. Dieses Präzipitat beeinträchtigt nicht die Interpretation der Ergebnisse.

VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN

1. Das Prolisa™ C. *difficile* GDH-EIA sollte nicht alleine für die Diagnose einer C. *difficile*-assoziierten Erkrankungen herangezogen werden. Die Diagnose muss die Testergebnisse, Krankengeschichte des Patienten sowie die Ergebnisse zusätzlicher Labortests berücksichtigen.
2. Das Prolisa™ C. *difficile* GDH-EIA unterscheidet nicht zwischen toxigenem und nicht-toxischem C. *difficile*. Die Anwesenheit des toxigenen C. *difficile* muss mit weiteren Tests bestätigt werden.
3. Wenn die Platte nicht ausreichend gewaschen wurde, kann es zu falsch positiven Testergebnissen kommen. Wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Pro-Lab Diagnostics, wenn Sie falsch positive Ergebnisse vermuten.

LEISTUNGSMERKMALE

Die klinische Auswertung wurde an zwei externen Versuchsstandorten unter Verwendung von Fäkalproben durchgeführt, die für Routineuntersuchungen auf das Vorhandensein von *C. difficile* eingereicht wurden. Die Proben wurden von Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA gemäß den mit dem Satz zur Verfügung gestellten Anweisungen getestet. Die Ergebnisse des Tests wurden mit den Ergebnissen der Kulturmethoden von *C. difficile* verglichen.

Tabelle 1 fasst die Anzahl an Subjekten und Fäkalprävalenz von *C. difficile* in der Studie zusammen. Insgesamt 985 Proben wurden getestet.

Tabelle 1 – Verteilung der Proben pro Standort

Standort der Studie	Fäkalproben		
	n	<i>C. difficile</i> Kultur Positiv	Prävalenz
Standort 1	483	67	13,9
Standort 2	502	71	14,1
Standorte zusammen	985	138	14,0

Tabelle 2 zeigt die Sensibilität, Spezifität und die Übereinstimmungswerte in Prozent von Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA in Bezug auf die Genesung von *C. difficile* von Fäkalproben pro Kultur.

Tabelle 2 - Leistung von Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA in Bezug auf die Kultur (Standorte zusammen)

Prolisa™ <i>C. difficile</i> GDH EIA Ergebnis	Kulturergebnisse			
		Positiv	Negativ	Gesamt
Positiv		128	74	202
Negativ		10	773	783
Gesamt		138	847	985

Relative Sensibilität: 92,8% [87,1 - 96,5%]*
 Relative Spezifität: 91,3% [89,2 - 93,1%]
 Positive Übereinstimmung: 63,4% [56,3 - 70,0%]
 Negative Übereinstimmung: 98,7% [97,7 - 99,4%]
 *95% Konfidenzintervall

Störende Substanzen

Substanzen, die manchmal in den Fäzes von Personen mit Durchfall gefunden werden, einschließlich gängiger intestinaler Arzneistoffe, Bariumsulfat und Blut, waren nicht reaktiv und beeinträchtigten den Nachweis von GDH in Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA nicht.

Prüfungsspezifität

Fünfundvierzig verschiedene enterale Mikroorganismen, bestehend aus 42 Bakterienstämmen und 3 Viren, wurden sowohl als reine Proben als auch in Stuhl getestet, um deren Reaktivität mit Prolisa zu bestimmen. Alle Bakterien wurden bei >1 x 10⁸ cfu/ml (Viren bei 1 x 10⁶ pfu/ml) in Kulturmedien getestet, in negative Stuhlproben gegeben und in negative Stuhlproben mit GDH (entworfen positives Muster) gegeben, um die Kreuzreaktivität und die Störung des Tests auszuwerten. Tabelle 3 listet die Organismen auf, die getestet wurden und bei der Prüfung keine Reaktion zeigten. Die Testreaktivität zeigte sich bei *Clostridium sporogenes*, das nicht Teil der normalen Darmflora ist. Keiner der restlichen Organismen war im GDH-Test reaktiv und führte auch nicht zu einer Störung der Testergebnisse. Prolisa wurde auch auf Reaktivität mit 18 *C. difficile* Stämmen getestet. Der Test reagierte mit allen getesteten Stämmen, einschließlich Stämmen, die Toxin A und Toxin B produzieren, Stämmen, die nur Toxin B produzieren und

Stämmen, die weder Toxin A noch Toxin B produzieren.

Tabelle 3 – Nicht-reaktive Mikroorganismen in Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA

<i>Adenovirus Serotyp 1</i>	<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Cocksackievirus</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Arcobacter butzleri</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> van B	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Enterococcus faecium</i> van A	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Citrobacter braakii</i> (freundii)	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Klebsiella pneumonia</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Clostridium novyi</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Clostridium septicum</i>	<i>Prevotella melanogenica</i>	

Analytische Sensibilität







Die Nachweisgrenze von Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA für rekombinantes *C. difficile* GDH beträgt ungefähr 3,5 ng/ml in der Fäkalprobe.

Prüfungsgenauigkeit




Die Variabilität bei den Prüfungen von Prolisa™ *C. difficile* GDH EIA wurde mit einer Tafel von Stuhlproben ausgewertet, die mit verschiedenen Mengen GDH versehen waren. Die Tafel umfasste negative, sehr negative, niedrig positive und leicht positive Proben. Die Tests wurden von zwei Anwendern an jedem der drei Standorte an fünf verschiedenen Tagen durchgeführt. Die Variabilität zwischen den Abläufen der positiven Proben reichte von 3,1%-12,2% und die der negativen Proben von 20,4%-50,6%. Die Variabilität bei den Prüfungen lag bei 1,1%-29,5% bei positiven Proben und bei 1,2%-39,4% bei negativen Proben. Die Gesamtübereinstimmung zwischen dem Testergebnis und dem erwarteten Probenergebnis mit negativen Proben lag bei 100%. Die Gesamtübereinstimmung zwischen dem Testergebnis und dem erwarteten Probenergebnis mit positiven Proben lag bei 97%. Die niedrig positive Probe wurde an der Nachweisgrenze festgelegt und deshalb wurde davon ausgegangen, dass aufgrund der Prüfungsvariabilität bis zu 5% negativ sein könnten.

QUELLEN

- Bartlett, J.G.** (1990). *Clostridium difficile*: Clinical Considerations. Rev. Infect. Diseases 12, Supplement 2, S243-S251.
- Wilkins, T.D and Lyerly, D.M.** (2003). *Clostridium difficile* Testing: after 20 Years, Still Challenging. J. Clin. Microbiol. 41, 531-534.
- Eastwood, K., et al.** (2009). Comparison of nine commercially available *Clostridium difficile* toxin detection assays, a real-time PCR assay for *C. difficile* tcdB, and a glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxicogenic culture methods. J. Clin. Microbiol. 47, 3211-3217.
- Health Protection Agency.** (2014). Processing of faeces for *Clostridium difficile*. UK Standards for Microbiology Investigations B 10. <https://www.gov.uk/government/publications/smi-b-10-processing-of-faeces-for-clostridium-difficile>

	= Hersteller
	= Autorisierter Repräsentant in der Europäischen Gemeinschaft
	= Enthält genügend (Material) für (n) Tests
	= Medizinprodukt für die in vitro Diagnostik.
	= Temperaturbegrenzung
	= Beachten Sie die Gebrauchsanleitung

Bei diesen Anleitungen handelt es sich um eine Fachübersetzung der englischen Originalversion. Bei Unklarheiten oder offensichtlichen Abweichungen wenden Sie sich bitte an Pro-Lab.

PL.2103	 Gefahr Gefährlicher Inhaltsstoff: Schwefelsäure [0,55 %] Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Schutzhandschuhe tragen. Schutzkleidung tragen. Augen- oder Gesichtsschutz tragen. Nach Gebrauch Hände gründlich waschen. BEI EINATMEN: An die frische Luft und in eine Position bringen, die das Atmen erleichtert. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEIM VERSCHLÜCKEN: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT (oder Haar): Sofort alle kontaminierten Kleidungsstücke ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen. Unter Verschluss aufbewahren. Inhalt und Behälter gemäß allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen entsorgen.
PL.2110	 Warnhinweis Gefährlicher Inhaltsstoff: Thiomersal Kann die Organe schädigen bei längerer oder wiederholter Exposition. Dampf nicht einatmen. Bei Unwohlsein ärztliche Hilfe hinzuziehen. Inhalt und Behälter gemäß allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen entsorgen.
PL.2112	 Warnhinweis Gefährliche Inhaltsstoffe: Reaktionsmasse von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one [EG Nr. 247-500-7] und 2-Methyl-2-Isouthiazol-3-one [EG Nr. 220-239-6] (3:1) Kann allergische Hautreaktion verursachen. Schutzhandschuhe tragen. Einatmen von Dampf vermeiden. Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit reichlich Wasser und Seife abwaschen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Bei Hautreizung oder Ausschlag: Einen Arzt aufsuchen. Inhalt und Behälter gemäß allen örtlichen, regionalen, nationalen und internationalen Bestimmungen entsorgen.