

TOX A/B QUIK CHEK®

A rapid test for the detection of
C. difficile toxins A and B in fecal specimens
Catalog No. 30394 (25 Tests)
IVD *In Vitro* Diagnostic Medical Device
For Canadian Users: For Laboratory Use Only

ESPAÑOL p. 9
Test rápido para la detección de
las toxinas A y B de *C. difficile* en muestras fecales
Prod. No. 30394 (25 Pruebas)
IVD Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

DEUTSCH p. 17
Ein Schnelltest für den Nachweis
von *C. difficile*-Toxin A und B in Stuhlproben
Katalognummer. 30394 (25 Tests)
IVD *In-Vitro*-Diagnostikum

FRANÇAISE p. 25
Test rapide pour la détection
des toxines A et B de *C. difficile* dans les échantillons de selles
Numéro de Catalogue 30394 (25 Analyses)
IVD Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
Pour les utilisateurs Canadiens: Pour usage en laboratoire seulement

Made in the USA

U.S. Patent #8,343,726

Developed and Manufactured by:



TECHLAB®

2001 Kraft Drive
Blacksburg, VA 24060-6358 USA
www.techlab.com
TEL 1-800-832-4522 USA
TEL 1-540-953-1664 Outside USA

CE **REP** Emergo Europe
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

TOX A/B QUIK CHEK®

INTENDED USE

The *TOX A/B QUIK CHEK*® test is a rapid immunoassay for detecting *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens from persons suspected of having *C. difficile* disease. The test is to be used as an aid in the diagnosis of *C. difficile* disease and results should be considered in conjunction with the patient history.

Caution: U.S. Federal Law restricts this device to sale by or on the order of a physician.

EXPLANATION

After treatment with antibiotics, many patients develop gastrointestinal problems ranging from mild diarrhea to severe pseudomembranous colitis. Many cases of the milder forms of gastrointestinal illness and most cases of pseudomembranous colitis are caused by toxigenic strains of *Clostridium difficile* (1). This organism is an opportunistic anaerobic bacterium that grows in the intestine once the normal flora has been altered by the antibiotic. Toxigenic strains of *C. difficile* carry the genes encoding the toxins while non-toxigenic strains do not carry the toxin genes. The disease results from the toxins that the toxigenic organism produces. The clinical symptoms associated with the disease are believed to be primarily due to toxin A, which is a tissue-damaging enterotoxin (2,3). *C. difficile* also produces a second toxin, designated toxin B. Toxin B, which has been referred to as the cytotoxin of the organism, is the toxin detected by the tissue culture assay currently used by many laboratories. Toxigenic *C. difficile* strains produce both toxins or only toxin B (4-7).

PRINCIPLE OF THE TEST

The *TOX A/B QUIK CHEK*® uses antibodies specific for toxins A and B of *C. difficile*. The device contains a *Reaction Window* with two vertical lines of immobilized antibodies (Fig. 1a). The test line ("T") contains antibodies against *C. difficile* toxins A and B. The control line ("C") contains anti-IgG antibodies. The *Conjugate* consists of antibodies to toxins A and B coupled to horseradish peroxidase. To perform the test, the sample is added to a tube containing a mixture of *Diluent* and *Conjugate*. The diluted sample-conjugate mixture is added to the *Sample Well* and the device is allowed to incubate at room temperature for 15 minutes. During the incubation, any toxin A and toxin B in the sample bind to anti-toxin antibody-peroxidase conjugate. The toxin-antibody complexes migrate through a filter pad to a membrane where they are captured by the immobilized anti-toxin antibodies in the line. The *Reaction Window* is subsequently washed with *Wash Buffer*, and the test is developed with the addition of *Substrate*. After a 10 minute incubation period, the "T" reaction is examined visually for the appearance of a vertical blue line on the "T" side of the *Reaction Window*. A blue line indicates a positive test. A positive "C" reaction, indicated by a vertical blue line on the "C" side of the *Reaction Window*, confirms that the test is working properly and the results are valid.

MATERIALS PROVIDED

MEM	DEV
DIL	SPE

Membrane Devices –25 pouches, each containing 1 device

Diluent (14 mL) – Buffered protein solution containing 0.02% thimerosal with graduated dropper assembly*

Danger H360 - May damage fertility or the unborn child.

H412 - Harmful to aquatic life with long lasting effects.

P201, P202, P273, P280, P308+P313, P405, P501



WASH	REAG
------	------

Wash Buffer (10 mL) – A buffered solution containing 0.02% thimerosal with graduated dropper assembly*

SUBS	REAG
------	------

Substrate (3.5 mL) – Solution containing tetramethylbenzidine

CONJ	ENZ
------	-----

Conjugate (2 mL) – Mouse monoclonal antibody specific for toxin A coupled to horseradish peroxidase and goat polyclonal antibody specific for toxin B coupled to horseradish peroxidase in a buffered protein solution containing 0.02% thimerosal*

CONTROL + **Positive Control (1 mL)** – Antigen in a buffered protein solution
Disposable plastic transfer pipettes – 50 (graduated at 25 μ L, 400 μ L and 500 μ L)

*contains mercury



MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Small test tubes (e.g., plastic Eppendorf tubes)

Applicator sticks

Timer

Vortex mixer

Disposable gloves for handling fecal samples

Pipettor and tips

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date of the kit is given on the label. Expiration dates for each component are listed on the individual labels. The kit should be stored between 2° and 8°C.

PRECAUTIONS

1. Rx Only - Prescription Only
2. For *in vitro* diagnostic use. For professional use only.
3. Reagents from different kits should not be mixed. Do not use a kit past the expiration date.
4. Bring all components to ROOM TEMPERATURE BEFORE USE!
5. Caps, tips and dropper assemblies are color-coded; do NOT mix or interchange!
6. Do not freeze the reagents. The kit should be stored between 2°C and 8°C.
7. The pouch containing the *Membrane Device* should be at room temperature before opening, and opened just before use. Keep the membrane devices dry before use.
8. Use fecal specimens within 72 hours of collection to obtain optimal results. Specimens that are frozen may lose activity due to freezing and thawing.
9. Specimens that have been preserved in 10% Formalin, merthiolate formalin, sodium acetate formalin or polyvinyl alcohol cannot be used.
10. Specimens in transport media such as Cary Blair and C&S can be used as specified in the specimen preparation protocol.
11. Hold reagent bottles vertically to dispense reagents to ensure consistent drop size.
12. Specimens and membrane devices should be handled and disposed of as potential biohazards after use. Wear disposable gloves when doing the test.
13. Membrane devices cannot be reused.
14. The test has been optimized for sensitivity and specificity. Alterations of the specified procedure and/or test conditions may affect the sensitivity and specificity of the test. Do not deviate from the specified procedure.
15. Microbial contamination of reagents may decrease the accuracy of the assay. Avoid microbial contamination of reagents by using sterile disposable pipettes if removing aliquots from reagent bottles.
16. Be attentive to the total assay time when testing more than one fecal specimen. Add *Diluent* first, then add the *Conjugate* to each tube of *Diluent*. Then add specimen to the tube of *Diluent/Conjugate*. Thoroughly mix all of the diluted specimens, and then transfer to the *Membrane Device*. The 15-minute incubation step begins after the last diluted sample-conjugate mixture has been transferred to the final *Membrane Device*.
17. If the *Substrate* reagent changes to a dark blue/violet color call technical services for replacement.
18. Reagents contain thimerosal as a preservative. Handle reagents according to existing regulations for laboratory safety and good laboratory practice. Safety Data Sheets for this product are available upon request, contact technical support.
19. Follow your national, regional, and local ordinances accordingly for waste disposal regulations. Do not place in trash, dispose of as hazardous waste.

COLLECTION AND HANDLING OF FECAL SPECIMENS

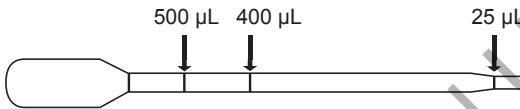
1. Standard collection and handling procedures used in-house for fecal specimens are appropriate. Specimens should be stored between 2° and 8°C; test specimens that are less than 24 hours old, whenever possible.

2. Store specimens frozen ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) if the test cannot be performed within 72 hours of collection, but note that freezing and thawing of the specimen may result in loss of activity due to degradation of the toxins.
3. Make sure that specimens are thoroughly mixed PRIOR to performing the assay.
4. Storing fecal specimens in the *Diluent* is NOT recommended.
5. Do not allow the fecal specimens to remain in the *Diluent/Conjugate* for > 24 hours.

SPECIMEN PREPARATION

1. Bring all reagents and the required number of devices to room temperature before use.
2. Set up and label one small test tube for each specimen, and optional external controls as necessary.
3. Add 500 μL *Diluent* to each tube for fecal specimens using the graduated black dropper assembly (or equivalent). For specimens in transport media such as Cary Blair or C&S, add 425 μL of *Diluent* to the tube.
4. Add one drop of *Conjugate* (red capped bottle) to each tube.
5. Obtain one disposable plastic transfer pipette (supplied with the kit) for each sample – the pipettes have raised graduations at 25 μL , 400 μL and 500 μL .

Graduated Transfer Pipette:



6. Mix all specimens thoroughly regardless of consistency- it is essential that the specimens be evenly suspended before transferring.

Liquid/Semi-solid specimens – pipette 25 μL of specimen with a transfer pipette (graduated at 25 μL , 400 μL and 500 μL) and dispense into the *Diluent/Conjugate* mixture. Use the same transfer pipette to mix the diluted specimen.

Formed/Solid specimens – Care must be taken to add the correct amount of formed feces to the sample mixture. Mix the specimen thoroughly using a wooden applicator stick and transfer a small portion (approximately 2 mm diameter, the equivalent of 25 μL) of the specimen into the *Diluent/Conjugate* mixture. Emulsify the specimen using the applicator stick.

Fecal specimens in Cary Blair or C&S transport media - pipette 100 μL of sample into the *Diluent/Conjugate* mixture.

7. **Optional External Control Samples:**

External Positive Control - add one drop of *Positive Control* (gray-capped bottle) to the appropriate test tube.

External Negative Control - add 25 μL *Diluent* to the appropriate test tube.

NOTE: Transferring too little specimen, or failure to mix and completely suspend the specimen in the *Diluent* mixture, may result in a false-negative test result. The addition of too much fecal specimen may cause invalid results due to restricted sample flow.

TEST PROCEDURE

1. Obtain one *Membrane Device* per specimen, and one device per optional external positive or negative control as necessary. The foil bags containing the devices should be brought to room temperature before opening. Label each device appropriately and orient it on a flat surface so the letter "C" on the device is on the left, the letter "T" is on the right, and the small *Sample Well* is located in the top right corner of the device (Fig. 1a).
2. Close each tube of diluted specimen and mix thoroughly. Proper mixing can be achieved by vortexing or inverting the tube. Once a patient sample or *Positive Control* has been diluted in the *Diluent/Conjugate* mixture, it may be incubated at room temperature for any period of time up to 24 hours prior to addition to the *Membrane Device*.

- Using a transfer pipette (graduated at 25 μ L, 400 μ L and 500 μ L), transfer 400 μ L of the diluted sample-conjugate mixture into the **Sample Well** (smaller hole in the top right corner of the device) of a **Membrane Device**, making certain to expel the liquid sample onto the wicking pad inside of the **Membrane Device**.
- Incubate the device at room temperature for 15 minutes – the sample will wick through the device and a wet area will spread across the **Reaction Window** (larger hole in the middle of the device).

NOTE FOR SAMPLES THAT FAIL TO MIGRATE:

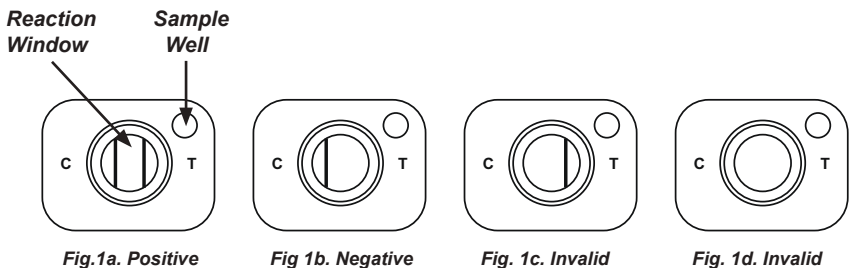
Occasionally, a diluted fecal specimen cannot be tested because it clogs the membrane and the Reaction Window does not wet properly. If the diluted fecal specimen fails to migrate properly within 5 minutes of adding the sample to the Sample Well (i.e. the membrane in the Reaction Window does not appear to be completely wet), then add 100 μ L (4 drops) of Diluent to the Sample Well and wait an additional 5 minutes (for a total of 20 minutes).

- After the incubation, add 300 μ L of **Wash Buffer** to the **Reaction Window** using the graduated white dropper assembly (or equivalent). Allow the **Wash Buffer** to flow through the **Reaction Window** membrane and be absorbed completely.
- Add 2 drops of **Substrate** (white-capped bottle) to the **Reaction Window**. Read and record results visually after 10 minutes.

INTERPRETATION OF RESULTS

- Interpretation of the test is most reliable when the device is read immediately at the end of the reaction period. Read the device at a normal working distance in a well-lit area. View with a line of vision directly over the device.
- Observe device for the appearance of a blue line on the “C” side of the **Reaction Window** representing the internal positive control line. Observe device for the appearance of a blue line on the “T” side of the **Reaction Window** representing the test line. The lines may appear faint to dark in intensity.
- Positive Result:** A positive result may be interpreted at any time between the addition of **Substrate** and the 10-minute read time. Two blue lines are visible, the control line (“C”) and the test line (“T”). The lines may appear faint to dark in intensity. The appearance of a blue line on the “T” side along with a blue control line is interpreted as a positive result. An obvious partial line is interpreted as a positive result. Do not interpret membrane discoloration or shadow as a positive result. A positive result indicates the presence of *C. difficile* toxin.
- Negative Result:** A test cannot be interpreted as negative or invalid until 10 minutes following the addition of **Substrate**. A single blue line is visible on the control (“C”) side of the **Reaction Window** and no test line is visible on the “T” side of the **Reaction Window** (Fig. 1b). A negative result indicates *C. difficile* toxin is either absent in the specimen or is below the detection limit of the test.
- Invalid Result:** A single line is visible on the test (“T”) side of the **Reaction Window**, or no lines are visible in the **Reaction Window** (Fig. 1c, 1d). The test result is invalid if a control line is not present at the completion of the reaction period.

FIGURE 1: TOX A/B QUIK CHEK® INTERPRETATION OF RESULTS



QUALITY CONTROL

Internal: A blue control line must be visible on the “C” side of the *Reaction Window* on every *Membrane Device* that is tested. The appearance of the blue control line confirms that the sample and reagents were added correctly, that the reagents were active at the time of performing the assay, and that the sample migrated properly through the *Membrane Device*. A clear background in the result area is considered an internal negative control. If the test has been performed correctly and reagents are working properly, the background will be clear to give a discernible result.

External: The reactivity of the *TOX A/B QUIK CHEK*® test should be verified on receipt using the *Positive Control* and negative control (*Diluent*). The *Positive Control* is supplied with the kit (gray-capped bottle). The *Positive Control* confirms the reactivity of the other reagents associated with the assay, and is not intended to ensure precision at the analytical assay cut-off. *Diluent* is used for the negative control. Additional tests can be performed with the controls to meet the requirements of local, state and/or federal regulations and/or accrediting organizations.

LIMITATIONS

1. The *TOX A/B QUIK CHEK*® test is used to detect *C. difficile* toxin(s) in fecal specimens. The test confirms the presence of toxin in feces and this information should be taken under consideration by the physician in light of the clinical history and physical examination of the patient. The *TOX A/B QUIK CHEK*® test will detect levels of toxin A at ≥ 0.63 ng/mL and toxin B at ≥ 1.25 ng/mL.
2. Fecal specimens are extremely complex. Optimal results with the *TOX A/B QUIK CHEK*® test are obtained with specimens that are less than 24 hours old. Most undiluted specimens can be stored between 2° and 8°C for 72 hours before significant degradation of the toxin is noted. If specimens are not assayed within this time period, they may be frozen and thawed. However, repeated freezing and thawing may result in loss in the immunoreactivity of toxins A and B.
3. Some specimens may give weak reactions. This may be due to a number of factors such as the presence of low levels of toxin, the presence of binding substances, or inactivating enzymes in the feces. *Under these conditions, a fresh specimen should be tested.* Additional tests that may be used in conjunction with the *TOX A/B QUIK CHEK*® test include culture with toxigenic testing or tissue culture cytotoxicity assay for the detection of *C. difficile* or its toxin(s).
4. Fecal specimens preserved in 10% Formalin, merthiolate formalin, sodium acetate formalin, or polyvinyl alcohol cannot be used.
5. The *TOX A/B QUIK CHEK*® test is qualitative. The intensity of the color should not be interpreted quantitatively.
6. Some isolates of *C. sordellii* may react in the *TOX A/B QUIK CHEK*® test due to the production of immunologically related toxins (1).
7. Colonization rates of up to 50% have been reported in infants. A high rate has also been reported in cystic fibrosis patients (1,3).

EXPECTED VALUES

The reported incidence of *C. difficile*-associated disease in patients with antibiotic-associated diarrhea is 10 to 20%. In our studies, the incidence ranged from 10% to 22%. The prevalence of a positive *TOX A/B QUIK CHEK*® test will vary from location to location and hospitals may experience rates lower or higher than those observed at the sites used in this evaluation. *Clostridium difficile* disease is primarily a nosocomial disease of elderly patients, and hospitals that have higher numbers of elderly patients may experience higher rates. It is important to consider any test results in conjunction with clinical symptoms because some healthy adults and large numbers of healthy infants (up to 50%) will be positive for *C. difficile* toxin.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The *TOX A/B QUIK CHEK*[®] test was compared with the tissue culture test at three U.S. hospitals and in-house at TECHLAB[®], Inc. Specimens included in the evaluation were submitted to the clinical laboratory for routine testing. The tissue culture test was done according to the in-house procedure. The table below shows a summary of the clinical performance of the *TOX A/B QUIK CHEK*[®] test. The test exhibited a sensitivity and specificity of 90.2% and 99.7%, respectively. The predictive positive and negative values were 98.6% and 97.9%, respectively, and the correlation was 98.0%.

TABLE 1. Correlation of the *TOX A/B QUIK CHEK*[®] test with tissue culture.

N = 842	Tissue Culture positive	Tissue Culture negative
<i>TOX A/B QUIK CHEK</i> [®] positive	138	2
<i>TOX A/B QUIK CHEK</i> [®] negative	15	687

		95% CI
Sensitivity	90.2%	84.1 - 94.2
Specificity	99.7%	98.8 - 99.9
Predictive Positive Value	98.6%	94.4 - 99.8
Predictive Negative Value	97.9%	96.4 - 98.7
Correlation	98.0%	97.8 - 98.2

Of the 2 tissue culture-negative/*TOX A/B QUIK CHEK*[®]-positive samples, 1 was negative in a commercial toxin A+B ELISA. Of the 15 specimens that were tissue culture-positive/*TOX A/B QUIK CHEK*[®]-negative, 12 were negative in commercial toxin A+B ELISAs. There were 9 specimens that were unreadable. All of the specimens were negative by PCR analysis for the genes of toxin A (*tcdA*) and toxin B (*tcdB*).

A total of 51 fecal specimens diluted in Cary Blair and 32 fecal specimens diluted in C&S Transport Media were tested in the *TOX A/B QUIK CHEK*[®] test and the results were compared to those obtained by routine testing. The test exhibited an agreement of 97.6% for the detection of *C. difficile* toxins in specimens prepared in Transport Media.

ANALYTICAL SENSITIVITY

The test was consistently positive at a concentration of 0.63 ng/mL for toxin A and 1.25 ng/mL for toxin B.

REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the *TOX A/B QUIK CHEK*[®] test was determined using known positive (n=6) and negative (n=2) fecal specimens that were coded and sorted to prevent their identification during testing. Testing was performed on-site at 3 laboratories, which tested the samples on 3 days. The samples produced the expected results 100% of the time.

CROSS REACTIVITY

Fecal specimens inoculated with the following microorganisms to a final concentration of approximately 10⁸ or higher organisms per mL did not react in the *TOX A/B QUIK CHEK*[®]:

Bacteria: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii* (nontoxigenic), *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 0157 H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*

Viruses: Adenovirus types 1,2,3,5,40,41, Human coronavirus, Coxsackievirus B2,B3,B4,B5, Echovirus 9,11,18,22,33, Enterovirus type 68,69,70,71.

The only non-*C. difficile* organism to react with the TOX A/B QUIK CHEK® was *C. sordellii* VPI 9048. This strain produces toxins HT and LT, which are homologous to toxins A and B, respectively.

INTERFERING SUBSTANCES

The following substances had no effect on test results when present in feces in the concentrations indicated: mucin (3.5% w/v), human blood (40% v/v), barium sulfate (5% w/v), Imodium® (5% w/v), Kaopectate® (5 mg/mL), Pepto-Bismol® (5% w/v), steric/palmitic acid (40% w/v), Metronidazole (0.25% w/v), Vancomycin (0.25% w/v).

USO PREVISTO

El test TOX A/B QUIK CHEK® es un test de inmunoensayo rápido para la detección de las toxinas A y B de *Clostridium difficile* en muestras fecales de personas de las que se sospecha una enfermedad por *C. difficile*. El test debe utilizarse como una ayuda para el diagnóstico de la enfermedad causada por *C. difficile* y los resultados deben evaluarse siempre junto con los antecedentes del paciente.

Precaución: La Ley Federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo o bajo prescripción médica.

FUNDAMENTO

Después del tratamiento con antibióticos, muchos pacientes sufren problemas gastrointestinales que varían entre diarrea leve y colitis pseudomembranosa grave. Una gran parte de los casos más leves de enfermedad gastrointestinal y la mayoría de los casos de colitis pseudomembranosa están causados por cepas toxigénicas de *Clostridium difficile* (1). Este microorganismo es una bacteria anaerobia oportunista que crece en el intestino cuando la flora normal está alterada por el antibiótico. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* son portadoras de los genes que codifican las toxinas, mientras que las cepas no toxigénicas no contienen estos genes de toxinas. La enfermedad está causada por las toxinas que produce el microorganismo toxigénico. Se cree que los síntomas clínicos asociados a la enfermedad están causados principalmente por la toxina A, una enterotoxina que lesiona los tejidos (2,3). *C. difficile* también produce una segunda toxina, denominada toxina B. La toxina B, que se ha denominado como la citotoxina del microorganismo, se detecta mediante los análisis de cultivos tisulares utilizados actualmente en numerosos laboratorios. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* producen ambas toxinas o sólo la toxina B (4-7).

PRINCIPIO DEL TEST

El test TOX A/B QUIK CHEK® utiliza anticuerpos específicos para las toxinas A y B de *C. difficile*. El dispositivo contiene una *Ventana de reacción* con dos líneas verticales con anticuerpos inmovilizados (Fig. 1a). La línea de test ("T") contiene anticuerpos frente a las toxinas A y B de *C. difficile*. La otra es una línea de control ("C") y contiene anticuerpos frente a las IgG. El *Conjugado* contiene anticuerpos frente a las toxinas A y B unidos a peroxidasa de rábano picante. Para realizar el test, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de *Diluyente* y *Conjugado*. La mezcla muestra-conjugado diluida se añade al *Pocillo de muestra* y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, las toxinas A y B presentes en la muestra se unen al conjugado de anticuerpo antitoxina-peroxidasa. Los complejos toxina-anticuerpo migran a través de un filtro almohadillado y alcanzan una membrana en la que son captados por los anticuerpos antitoxina inmovilizados en la línea. A continuación, la *Ventana de reacción* se lava con *Solución tampón de lavado* y el test se desarrolla con la adición del *Sustrato*. Tras una incubación de 10 minutos, se comprueba visualmente en la reacción "T" la aparición de una línea azul vertical en el lado "T" de la *Ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Una reacción positiva "C", indicada por una línea azul vertical en el lado "C" de la *Ventana de reacción*, confirma que el test funciona adecuadamente y los resultados son válidos.

MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM	DEV
-----	-----

Dispositivos de membrana – 25 bolsas, cada una con 1 dispositivo

DIL	SPE
-----	-----

Diluyente (14 mL) – Solución tamponada proteínica con tiomersal al 0,02% con cuentagotas graduado*

Peligro H360 - Puede perjudicar la fertilidad o dañar al feto.

H412 - Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

P201, P202, P273, P280, P308+P313, P405, P501



WASH|REAG

Tampón de lavado (10 mL) – Solución tamponada con tiomersal al 0,02% con cuentagotas graduado*

SUBS|REAG

Sustrato (3.5 mL) – Solución con tetrametilbenzidina

CONJ|ENZ

Conjugado (2 mL) – Anticuerpo monoclonal de ratón específico para la toxina A unido a peroxidasa de rábano picante y anticuerpo policlonal de cabra específico para la toxina B unido a peroxidasa de rábano picante en una solución de proteínas tamponada con tiomersal al 0,02%*

CONTROL|+

Control positivo (1 mL) – Antígeno en una solución tamponada de proteínas

Pipetas de plástico desechables – 50 (graduadas a 25 µL, 400 µL y 500 µL)

* contiene mercurio



MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico Eppendorf)

Palitos aplicadores

Cronómetro

Mezclador de tipo vórtex

Guantes desechables para manipular las muestras fecales

Pipeta y puntas de pipeta

TIEMPO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta. Las fechas de caducidad de cada componente se indican en las etiquetas individuales. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.

PRECAUCIONES

1. Rx Only - Solo con receta
2. Para uso diagnóstico *in vitro*. Exclusivamente para uso profesional.
3. No deben mezclarse los reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
4. ¡ANTES DEL USO atempere todos los componentes hasta alcanzar la TEMPERATURA AMBIENTE!
5. Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.
6. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C.
7. La bolsa con el *dispositivo de membrana* debe estar a temperatura ambiente antes de la apertura y se abrirá justo antes del uso. Mantenga secos los dispositivos de membrana antes del uso.
8. Las muestras fecales deben analizarse en un plazo no superior a 72 horas desde su recogida para obtener resultados óptimos. En las muestras congeladas puede perderse la actividad de la toxina por los procesos de congelación y descongelación.
9. No pueden utilizarse las muestras conservadas en formol al 10%, formol mertiolato, formol acetato sódico o alcohol polivinílico.
10. Pueden utilizarse las muestras en medios de transporte, como los medios Cary Blair o C&S, de la forma especificada en el protocolo de preparación de las muestras.
11. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical con el fin de asegurar que el tamaño de las gotas sea consistente.
12. Las muestras y los dispositivos de membrana deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos. Utilice guantes desechables para realizar el test.
13. Los dispositivos de membrana no pueden volver a utilizarse.
14. El test se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. La modificación del procedimiento especificado o las condiciones del test puede alterar la sensibilidad y la especificidad del test. No se desvíe del procedimiento especificado.
15. La contaminación microbiana de los reactivos puede menoscabar la precisión del análisis. Evite la contaminación microbiana de los reactivos utilizando pipetas estériles desechables cuando extraiga alícuotas de los frascos de reactivos.

16. Preste atención al tiempo total del análisis cuando se realice el test con más de una muestra fecal. Añada primero el *Diluyente* y, a continuación, añada el *Conjugado* a cada tubo de *Diluyente*. A continuación, añada la muestra al tubo de *Diluyente/Conjugado*. Mezcle bien todas las muestras diluidas y, a continuación, transfíralas al *dispositivo de membrana*. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla muestra-conjugado diluida al *dispositivo de membrana* final.
17. Si el reactivo del *Sustrato* adquiere un color azul oscuro/violeta, avise al Servicio técnico para su sustitución.
18. Los reactivos contienen tiomersal como conservante. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido, consultar al soporte técnico.
19. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos. No lo tire a la basura, elimínelo como residuo peligroso.

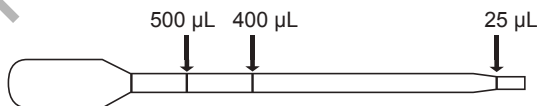
RECOGIDA Y TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS FECALES

1. Los procedimientos internos estándar habituales de recogida y transporte de las muestras fecales son adecuados. Las muestras deben conservarse a una temperatura entre 2 y 8 °C. Siempre que sea posible, las muestras se procesarán en las 24 posteriores a su recogida.
2. Almacene las muestras congeladas (≤ -10 °C) si el test no puede realizarse en las 72 horas siguientes a la recogida de la muestra, pero tenga en cuenta que el congelado y el descongelado de la muestra pueden provocar la pérdida de actividad por la degradación de las toxinas.
3. Es necesario asegurarse de que las muestras estén completamente mezcladas ANTES de realizar el análisis.
4. NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *Diluyente*.
5. No permita que las muestras fecales permanezcan en el *Diluyente/Conjugado* durante más de 24 horas.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

1. Espere hasta que todos los reactivos y el número de dispositivos necesarios estén a temperatura ambiente antes de su uso.
2. Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra y controles externos opcionales según sea necesario.
3. Añada 500 μL de *Diluyente* a cada tubo de muestras fecales utilizando el cuentagotas negro graduado (o equivalente). En el caso de las muestras en medios de transporte como Cary Blair o C&S, añada 425 μL de *Diluyente* al tubo.
4. Añada una gota de Conjugado (frasco con tapón rojo) a cada tubo.
5. Obtenga una pipeta de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra – las pipetas tienen las graduaciones de 25 μL , 400 μL y 500 μL .

Pipeta graduada:



6. Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia- es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de transferirlas. **Muestras líquidas/semisólidas** – pipetee 25 μL de muestra con una pipeta (graduada a 25 μL , 400 μL y 500 μL) y añádala en la mezcla de *Diluyente/Conjugado*. Utilice la misma pipeta para mezclar la muestra diluida. **Muestras formes/sólidas** – Es preciso tener cuidado para añadir el volumen correcto de heces formes a la mezcla de muestra. Mezcle bien la muestra con un palito

aplicador de madera y transfiera una porción pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µL) de la muestra en la mezcla de *Diluyente/Conjugado*. Emulsione la muestra con el palito aplicador.

Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S - pipetee 100 µL de muestra en la mezcla de *Diluyente/Conjugado*.

7. **Muestras opcionales de control externo:**

Control positivo externo – añada una gota de *Control positivo* (frasco con tapón gris) al tubo de ensayo adecuado.

Control negativo externo – añada 25 µL de *Diluyente* al tubo de ensayo adecuado.

NOTA: Si se transfiere muy poca muestra o si la muestra no se mezcla y se suspende completamente en la mezcla de Diluyente, puede obtenerse un resultado falso negativo del test. Si se añade una cantidad excesiva de heces, los resultados podrían invalidarse al disminuir el flujo de la muestra.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Obtenga un *dispositivo de membrana* por muestra y un dispositivo para el control positivo o negativo externo opcional según sea necesario. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben alcanzar la temperatura ambiente antes de abrirlas. Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la letra "C" del dispositivo se encuentre a la izquierda, la letra "T" se encuentre a la derecha y el *Pocillo de muestra* pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo (Fig. 1a).
2. Cierre cada tubo de muestra diluida y mézclelo bien. Mezcle adecuadamente con el vórtex o invirtiendo el tubo. Una vez diluida la muestra de paciente o control positivo en la mezcla *Diluyente/Conjugado*, esta puede ser incubada a temperatura ambiente durante un período de hasta 24 horas antes de ser añadida al *dispositivo de membrana*.
3. Utilice una pipeta (graduada en 25 µL, 400 µL y 500 µL), transfiera 400 µL de la mezcla de muestra-conjugado diluida en el ***Pocillo de muestra*** (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un *dispositivo de membrana* y asegúrese de que expulsa la muestra líquida en la almohadilla de absorción del interior del *dispositivo de membrana*.
4. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos – la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la *Ventana de reacción* (orificio más grande situado en el centro del dispositivo).

NOTA RELATIVA A LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:

Ocasionalmente, no es posible realizar el ensayo porque la muestra fecal diluida obstruye las membranas y la Ventana de reacción no se humedece adecuadamente. Si la muestra fecal diluida no migra adecuadamente 5 minutos después de haber añadido la muestra al Pocillo de muestra (es decir, la membrana de la Ventana de reacción no parece estar completamente húmeda), añada 100 µL (4 gotas) de Diluyente al Pocillo de muestra y espere otros 5 minutos (hasta un total de 20 minutos).

5. Después de la incubación, añada 300 µL de *Solución tampón de lavado* a la **Ventana de reacción** utilizando el cuentagotas blanco graduado (o equivalente). Deje que la *Solución de lavado* penetre en la membrana de la *Ventana de reacción* y se absorba completamente.
6. Añada 2 gotas de *Sustrato* (frasco con tapón blanco) a la **Ventana de reacción**. Lea y anote los resultados visualmente después de 10 minutos.

INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

1. La interpretación del test es más fiable cuando se lee el dispositivo inmediatamente después del periodo de reacción. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Visualice el resultado en la línea de visión directamente sobre el dispositivo.

- Observe la aparición de una línea azul en el lado "C" de la *Ventana de reacción* que representa la línea de control positivo interno. Observe la aparición de una línea azul en el lado "T" de la *Ventana de reacción* que representa la línea de test. El color de las líneas puede ser débil o intenso.
- Resultado positivo:** Un resultado positivo puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *Sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. Se observan dos líneas azules: la línea de control ("C") y la línea de test ("T"). El color de las líneas puede ser débil o intenso. La aparición de una línea azul en el lado "T" y una línea de control azul se interpreta como un resultado positivo. Una línea parcial visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana o una sombra como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de las toxinas de *C. difficile*.
- Resultado negativo:** Un test no puede interpretarse como negativo o inválido hasta 10 minutos después de la adición del *Sustrato*. Se observa una sola línea azul en el lado de control ("C") de la *Ventana de reacción* y no se observa una línea de test en el lado "T" de la *Ventana de reacción* (Fig. 1b). Un resultado negativo indica que la toxina de *C. difficile* está ausente en la muestra o por debajo del límite de detección del test.
- Resultado no válido:** Se observa una sola línea en el lado del test ("T") de la *Ventana de reacción* o no se observan líneas en la *Ventana de reacción* (Fig. 1c, 1d). El resultado del test no es válido si no se encuentra presente una línea de control al terminar el periodo de reacción.

FIGURA 1: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE TOX A/B QUIK CHEK®

Ventana de reacción *Pocillo de muestra*

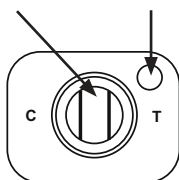


Fig. 1a. Positivo

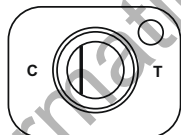


Fig. 1b. Negativo

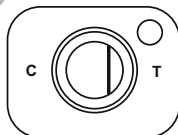


Fig. 1c. Nulo

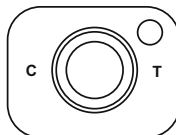


Fig. 1d. Nulo

CONTROL DE CALIDAD

Interno: Debe observarse una línea azul de control en el lado "C" de la *Ventana de reacción* en cada *dispositivo de membrana*. La aparición de la línea azul de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *Dispositivo de membrana*. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si el test se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será transparente para dar un resultado apreciable.

Externo: La reactividad del test *TOX A/B QUIK CHEK®* debe comprobarse al recibir el kit con el *Control positivo* y el control negativo (*Diluyente*). El *Control positivo* se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El *Control positivo* se utiliza para verificar la reactividad de los otros reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. El *Diluyente* se utiliza para el control negativo. Pueden realizarse tests adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y/o organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. El test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] se utiliza para detectar toxina(s) de *C. difficile* en muestras fecales. El test confirma la presencia de toxina en heces y esta información debe tenerla en cuenta el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente. El test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] detecta niveles de la toxina A a $\geq 0,63$ ng/mL y de la toxina B a $\geq 1,25$ ng/mL.
2. Las muestras fecales son muy complejas. Los resultados óptimos del test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] se obtienen con muestras recogidas en las 24 horas previas. La mayoría de las muestras no diluidas pueden conservarse entre 2 y 8 °C durante 72 horas antes de que se produzca una degradación significativa de las toxinas. Si las muestras no se pueden analizar en este período de tiempo, se pueden congelar y descongelar después. Sin embargo, si las muestras se congelan y descongelan varias veces, puede perderse la inmunoreactividad de las toxinas A y B.
3. En algunas muestras pueden obtenerse reacciones débilmente positivas. Esto puede deberse a diversos factores como la presencia de niveles bajos de toxina, la presencia de sustancias fijadoras o enzimas inactivadoras en las heces. *En estas condiciones, el test debe realizarse con una muestra fresca.* Otros tests adicionales que pueden utilizarse junto con el test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] son los cultivos con tests toxigénicos o ensayos de citotoxicidad en cultivos tisulares para detectar la presencia de *C. difficile* o sus toxinas.
4. No pueden utilizarse las muestras fecales conservadas en formol al 10%, formol mertiolato, formol acetato sódico o alcohol polivinílico.
5. El test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] es un test cualitativo. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
6. Algunos aislados de *C. sordellii* pueden reaccionar con el test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] por la producción de toxinas inmunológicamente relacionadas (1).
7. En niños se han descrito índices de colonización de hasta el 50%. Se ha descrito también un elevado índice de colonización en pacientes con fibrosis quística (1,3).

VALORES ESPERADOS

La incidencia de la enfermedad asociada al *C. difficile* en pacientes con diarrea asociada al uso de antibióticos es del 10% al 20%. En nuestros estudios, la incidencia varió entre el 10% y el 22%. La prevalencia de un test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] positivo varía entre las localizaciones y en los hospitales pueden observarse tasas inferiores o superiores a las observadas en los laboratorios incluidos en esta evaluación. La enfermedad por *Clostridium difficile* es, sobre todo, una enfermedad nosocomial que afecta a pacientes de edad avanzada y los hospitales con cifras elevadas de pacientes ancianos pueden observar tasas más elevadas. Es importante interpretar cualquier resultado junto con los síntomas clínicos, porque en algunos adultos sanos y un gran número de niños sanos (hasta el 50%) se obtienen resultados positivos para la toxina de *C. difficile*.

CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO

Se comparó el test *TOX A/B QUIK CHEK*[®] con cultivos celulares en tres hospitales de Estados Unidos e internamente en TECHLAB[®], Inc. Las muestras incluidas en la evaluación se remitieron al laboratorio clínico para su análisis rutinario. El test de los cultivos tisulares se realizó de acuerdo con el protocolo interno. En la siguiente tabla se muestra un resumen del funcionamiento clínico del test *TOX A/B QUIK CHEK*[®]. El test demostró una sensibilidad y una especificidad del 90,2% y del 99,7%, respectivamente. Los valores pronósticos positivos y negativos fueron del 98,6% y del 97,9%, respectivamente, y la correlación fue del 98,0%.

Tabla 1. Correlación del test *TOX A/B QUIK CHEK*® con cultivos tisulares.

N = 842	Cult. tisul. positivo	Cult. tisul. negativo
<i>TOX A/B QUIK CHEK</i> ® positivo	138	2
<i>TOX A/B QUIK CHEK</i> ® negativo	15	687

		95% CI
Sensibilidad	90,2%	84,1 - 94,2
Especificidad	99,7%	98,8 - 99,9
Valor pronóstico positivo	98,6%	94,4 - 99,8
Valor pronóstico negativo	97,9%	96,4 - 98,7
Correlación	98,0%	97,8 - 98,2

De las dos muestras negativas para el cultivo tisular/positivas para *TOX A/B QUIK CHEK*®, 1 fue negativa con un test ELISA A+B comercializado. De las 15 muestras que fueron positivas para el cultivo tisular/negativas para *TOX A/B QUIK CHEK*®, 12 fueron negativas con tests ELISA A+B comercializado. Hubo 9 muestras que no pudieron leerse. Todas las muestras fueron negativas mediante la reacción en cadena de la polimerasa de los genes de la toxina A (*tcdA*) y la toxina B (*tcdB*).

Se analizó un total de 51 muestras fecales diluidas en Cary Blair y 32 muestras fecales diluidas en medio de transporte C&S con el test *TOX A/B QUIK CHEK*® y se compararon los resultados con los obtenidos mediante análisis rutinarios. El test presentó una concordancia del 97,6% en la detección de las toxinas de *C. difficile* en muestras preparadas en medios de transporte.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El test fue consistentemente positivo a una concentración de 0,63 ng/mL de la toxina A y 1,25 ng/mL de la toxina B.

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del test *TOX A/B QUIK CHEK*® se determinó con muestras fecales positivas (n=6) y negativas (n=2) que se codificaron y clasificaron para evitar que se identificasen durante el análisis. El análisis se realizó en 3 laboratorios que analizaron las muestras durante 3 días. Las muestras produjeron los resultados esperados en todos los casos.

REACTIVIDAD CRUZADA

Las muestras fecales inoculadas con los siguientes microorganismos a una concentración final de aproximadamente 10⁸ o superior de organismos por mL no reaccionaron con el test *TOX A/B QUIK CHEK*®:

Bacterias: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii* (no toxigénico), *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157 H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*,

Pseudomonas aeruginosa, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*

Virus: tipos 1,2,3,5,40 y 41 del adenovirus, coronavirus humano, virus Coxsackie B2,B3,B4,B5, virus Echo 9,11,18,22,33, tipos 68,69,70,71 del enterovirus.

El único organismo no *C. difficile* que reaccionó con el test *TOX A/B QUIK CHEK*® fue *C. sordellii* VPI 9048. Esta cepa produce las toxinas HT y LT, que son homólogas a las toxinas A y B, respectivamente.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias no influyeron en los resultados del test cuando se encontraban presentes en las heces en las concentraciones indicadas: mucina (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), sulfato de bario (5% p/v), Imodium® (5% p/v), Kaopectate® (5 mg/mL), Pepto-Bismol® (5% p/v), ácido estérico/palmitico (40% p/v), metronidazola (0,25% p/v), vancomicina (0,25% p/v).

VERWENDUNGSZWECK

Der TOX A/B QUIK CHEK®-Test ist ein Immunoassay-Schnelltest für den Nachweis von *Clostridium difficile*-Toxin A und B in Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf eine *C. difficile*-assoziierte Erkrankung. Der Test dient als Hilfsmittel bei der Diagnose einer *C. difficile*-assoziierten Erkrankung, und seine Ergebnisse sind im Zusammenhang mit der Patientenanamnese zu betrachten.

Achtung: Gemäß US-Bundesgesetz ist der Verkauf dieses Produkts an Ärzte bzw. auf Anordnung eines Arztes beschränkt.

ERLÄUTERUNG

Nach einer Antibiotikabehandlung treten bei vielen Patienten Magen-Darm-Beschwerden auf, die von leichtem Durchfall bis zu schwerer pseudomembranöser Kolitis reichen. Viele der leichteren Magen-Darm-Erkrankungen sowie die meisten Fälle von pseudomembranöser Kolitis werden von toxischen *Clostridium difficile*-Stämmen verursacht (1). Dieser Organismus ist ein opportunistisches anaerobes Bakterium, das sich im Darm ansiedelt, sobald die normale Darmflora durch das Antibiotikum verändert wird. Toxische *C. difficile*-Stämme enthalten toxinkodierende Gene, während nicht-toxische Stämme keine Toxingene enthalten. Die Erkrankung ist auf die Toxine zurückzuführen, die der toxische Organismus produziert. Man geht davon aus, dass die mit der Erkrankung assoziierten klinischen Symptome hauptsächlich von Toxin A verursacht werden, einem gewebeschädigenden Enterotoxin (2,3). *C. difficile* bildet noch ein zweites Toxin, das sogenannte Toxin B. Toxin B, als Zytotoxin des Organismus bezeichnet, ist jenes Toxin, das durch den in vielen Labors eingesetzten Gewebekulturtest nachgewiesen wird. Toxische *C. difficile*-Stämme bilden entweder beide Toxine oder nur Toxin B (4-7).

TESTPRINZIP

Bei dem TOX A/B QUIK CHEK®-Test werden für Toxin A und B spezifische Antikörper von *C. difficile* eingesetzt. Der Test verfügt über ein *Reaktionsfenster* mit zwei vertikalen Linien mit immobilisierten Antikörpern. (Abb. 1a). Die Testlinie („T“) enthält Antikörper gegen die *C. difficile*-Toxine A und B. Die Kontrolllinie („C“), enthält Anti-IgG Antikörper. Das *Konjugat* besteht aus an Meerrettich-Peroxidase gebundenen Antikörpern gegen Toxin A und B. Zur Durchführung des Tests wird die Probe einem Reagenzglas mit einer Mischung aus *Verdünnungspuffer* und *Konjugat* hinzugefügt. Die verdünnte Proben-Konjugatmischung wird in die *Probenvertiefung* gegeben und die Testkarte bei Raumtemperatur 15 Minuten inkubiert. Während der Inkubation bindet in der Probe vorhandenes Toxin A und B an das Antitoxin-Antikörper-Peroxidase-Konjugat. Die Toxin-Antikörper-Komplexe migrieren durch ein Filterpad zu einer Membran, wo sie von den immobilisierten Antitoxin-Antikörpern auf der Linie eingefangen werden. Anschließend wird das *Reaktionsfenster* mit *Waschpuffer* gewaschen und für die Entwicklung des Testergebnisses *Substrat* zugegeben. Nach einer Inkubation von 10 Minuten wird die „T“-Reaktion mittels Sichtkontrolle auf das Erscheinen einer blauen Linie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters* untersucht. Eine blaue Linie weist auf einen positiven Test hin. Eine positive „C“-Reaktion, angezeigt durch eine vertikale blaue Linie auf der „C“-Seite des *Reaktionsfensters*, bestätigt, dass der Test ordnungsgemäß funktioniert und die Ergebnisse gültig sind.

ENTHALTENE MATERIALIEN

MEM	DEV
DIL	SPE

Testkarten – 25 Beutel mit je 1 Testkarte

Verdünnungspuffer (14 mL) – Gepufferte Proteinlösung mit 0,02 % Thimerosal mit geeichtem Tropfer*

Gefahr H360 - Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen.



H412 - Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.
P201, P202, P273, P280, P308+P313, P405, P501

WASH|REAG

Waschpuffer (10 mL) – Gepufferte Lösung mit 0,02 % Thimerosal mit geeichetem Tropfer*

SUBS|REAG

Substrat (3,5 mL) – Lösung mit Tetramethylbenzidin

CONJ|ENZ

Konjugat (2 mL) – Toxin A-spezifischer monoklonaler Maus-Antikörper, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, und Toxin B-spezifischer polyklonaler Ziegen-Antikörper, gebunden an Meerrettich-Peroxidase, in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,02 % Thimerosal*

CONTROL|+

Positive Kontrolle (1 mL) – Antigen in gepuffertes Proteinlösung

Einweg-Kunststoffpipetten - 50 (auf 25 µL, 400 µL und 500 µL geeicht)

*enthält Quecksilber



BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

Kleine Reagenzgläser (z.B. Eppendorf-Reagenzgläser aus Kunststoff)

Holzstäbchen

Zeitgeber

Vortex-Schüttler

Pipettierer und Pipettenspitzen

Einweghandschuhe für Handhabung der Stuhlproben

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum des Testkits ist auf dem Packungsetikett angegeben. Die Verfallsdaten für die einzelnen Bestandteile sind auf den jeweiligen Etiketten angegeben. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Rx Only - Verschreibungspflichtig
2. *In-vitro*-Diagnostikum. Nur für den professionellen Gebrauch.
3. Reagenzien aus verschiedenen Kits nicht mischen. Verwenden Sie das Testkit nicht nach dem Verfallsdatum.
4. Lassen Sie alle Bestandteile VOR DER VERWENDUNG RAUMTEMPERATUR annehmen!
5. Verschlüsse, Spitzen und Tropfer sind farbkodiert; NICHT vertauschen!
6. Reagenzien nicht einfrieren. Das Kit muss zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden.
7. Der Beutel mit der *Testkarte* muss vor dem Öffnen Raumtemperatur angenommen haben und darf erst unmittelbar vor dem Gebrauch geöffnet werden. Testkarten vor Gebrauch trocken lagern.
8. Verwenden Sie Stuhlproben innerhalb von 72 Stunden nach Entnahme, um optimale Ergebnisse zu erzielen. Gefrorene Proben können aufgrund des Einfrier- und Auftauvorganges Aktivitätsverluste aufweisen.
9. Proben, die in 10 % Formalin, Merthiolat-Formalin, Natriumacetat-Formalin oder Polyvinylalkohol konserviert wurden, können nicht verwendet werden.
10. Proben aus Transportmedien wie Cary Blair oder C&S können nach den Anweisungen im Probenvorbereitungsprotokoll verwendet werden.
11. Halten Sie die Reagenzflaschen bei der Reagenzienaussgabe senkrecht, um eine konsistente Tropfengröße sicherzustellen.
12. Proben und Testkarten nach dem Gebrauch als potenzielle biologische Gefahrstoffe behandeln und entsorgen. Tragen Sie während der Durchführung des Tests Einweghandschuhe.
13. Die Testkarten dürfen nicht wiederverwendet werden.
14. Der Test wurde in Bezug auf Sensitivität und Spezifität optimiert. Abweichungen vom angegebenen Verfahren und/oder Änderungen der Testbedingungen können die Sensitivität und Spezifität des Tests beeinflussen. Halten Sie sich genau an die Anweisungen.
15. Mikrobielle Kontamination kann die Genauigkeit des Tests beeinträchtigen. Vermeiden Sie mikrobielle Kontamination der Reagenzien, indem Sie sterile Einweg-Pipetten für die Reagenzientnahme aus den Flaschen verwenden.

16. Achten Sie beim Testen mehrerer Stuhlproben auf die Gesamttestzeit. Geben Sie zuerst den *Verdünnungspuffer*, dann das *Konjugat* in jedes *Verdünnungspuffer*-Reagenzglas. Geben Sie hierauf die Probe in das Reagenzglas mit *dem Verdünnungspuffer/Konjugat*. Mischen Sie die verdünnten Proben gründlich durch und geben Sie diese dann auf die *Testkarte*. Der 15-minütige Inkubationsschritt beginnt nach Übertragung der letzten verdünnten Proben-Konjugatmischung auf die letzte *Testkarte*.
17. Sollte die Substratreagenz eine dunkelblaue/violette Färbung annehmen, so wenden Sie sich bitte an den Kundendienst für einen Ersatz.
18. Die Reagenzien enthalten Thimerosal als Konservierungsstoff. Reagenzien gemäß vorhandenen Vorschriften für die Laborsicherheit und gute Laborpraxis behandeln. Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Nachfrage erhältlich. Wenden Sie sich an den technischen Support.
19. Befolgen Sie Ihre nationalen, regionalen und lokalen Verordnungen in Bezug auf die Abfallentsorgung. Nicht zum Hausmüll geben, als gefährlichen Abfall entsorgen.

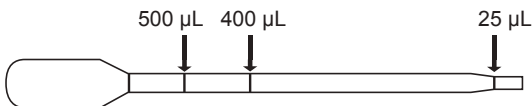
ENTNAHME UND HANDHABUNG DER STUHLPROBEN

1. Die üblichen Labormethoden für Entnahme und Handhabung von Stuhlproben sind geeignet. Die Proben müssen bei Temperaturen zwischen 2 °C und 8 °C gelagert werden. Nach Möglichkeit sollten die Stuhlproben beim Test weniger als 24 Stunden alt sein.
2. Frieren Sie die Proben ein ($\leq -10^{\circ}\text{C}$), wenn der Test nicht innerhalb von 72 Stunden nach der Entnahme durchgeführt werden kann. Beachten Sie jedoch, dass ein Einfrieren und Auftauen der Proben aufgrund des Zerfalls der Toxine zu Aktivitätsverlusten führen kann.
3. Stellen Sie sicher, dass die Proben VOR der Testdurchführung gründlich gemischt werden.
4. Stuhlproben sollten NICHT im *Verdünnungspuffer* gelagert werden.
5. Lassen Sie die Stuhlproben nie länger als 24 Stunden im *Verdünnungspuffer/Konjugat*.

VORBEREITUNG DER PROBEN

1. Lassen Sie alle Reagenzien und die erforderliche Anzahl von Testkarten vor der Verwendung Raumtemperatur annehmen.
2. Benutzen Sie für jede Stuhlprobe und zusätzliche externe Kontrollen ein eigenes kleines Reagenzglas und kennzeichnen Sie es.
3. Geben Sie mithilfe des geeichten schwarzen Tropfers (oder Ähnlichem) 500 μL *Verdünnungspuffer* in jedes Reagenzglas mit Stuhlproben. Bei Proben aus Transportmedien wie Cary Blair oder C&S geben Sie 425 μL *Verdünnungspuffer* in das Reagenzglas.
4. Fügen Sie jedem Reagenzglas einen Tropfen Konjugat (Flasche mit rotem Verschluss) bei.
5. Nehmen Sie eine Einweg-Plastiktransferpipette (im Lieferumfang enthalten) für jede Probe – die Pipetten sind auf 25 μL , 400 μL und 500 μL geeicht.

Geeichte Transferpipette:



6. Mischen Sie alle Proben unabhängig von ihrer Konsistenz gründlich durch – eine gleichmäßige Suspension der Proben vor dem Übertragen ist unbedingt erforderlich. **Flüssige/Halbfeste Proben** – Pipettieren Sie 25 μL der Proben mit einer Transferpipette (auf 25 μL , 400 μL und 500 μL geeicht) und dispensieren Sie diese in die *Verdünnungspuffer/Konjugat*-Mischung. Benutzen Sie dieselbe Transferpipette

zum Mischen der verdünnten Probe.

Feste Stuhlproben – Achten Sie genau darauf, dass Sie der Probenmischung die korrekte Stuhlmenge beifügen. Mischen Sie die Probe gründlich mithilfe eines Holzstäbchens durch und übertragen Sie eine kleine Probenmenge (ca. 2 mm Durchmesser, entspricht der Menge von 25 µL) in die *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung*. Emulgieren Sie die Probe mit dem Holzstäbchen.

Proben aus Cary Blair oder C&S -Transportmedien - Pipettieren Sie 100 µL Probe in die *Verdünnungspuffer/Konjugat-Mischung*.

7. **Externe Kontrollproben (optional):**

Externe positive Kontrolle – geben Sie einen Tropfen *positive Kontrolle* (Flasche mit grauem Verschluss) in das entsprechende Reagenzglas.

Externe negative Kontrolle – geben Sie 25 µL *Verdünnungspuffer* in das entsprechende Reagenzglas.

BITTE BEACHTEN: Ist die übertragene Probenmenge zu gering oder wird die Probe im Verdünnungspuffer nicht ausreichend gemischt und vollständig suspendiert, so kann dies zu einem falsch-negativen Testergebnis führen. Eine zu große Probenmenge kann aufgrund des beeinträchtigten Probenflusses zu ungünstigen Ergebnissen führen.

TESTVERFAHREN

1. Wählen Sie eine *Testkarte* pro Probe und eine Testkarte für die zusätzliche externe positive oder negative Kontrolle (optional). Bringen Sie die Folienbeutel mit den Testkarten vor dem Öffnen auf Raumtemperatur. Beschriften Sie jede Karte ordnungsgemäß und legen Sie diese so auf eine flache Oberfläche, dass sich der Buchstabe „C“ links auf der Karte, der Buchstabe „T“ rechts und die kleine *Probenvertiefung* in der rechten oberen Ecke der Karte befinden (Abb. 1a).
2. Verschließen Sie alle Reagenzgläser mit den verdünnten Proben und mischen Sie gründlich. Gründliches Mischen erzielen Sie mittels Vortexen oder Umdrehen des Reagenzglases. Nach der Verdünnung einer Patientenprobe oder *positiven Kontrolle* in der *Verdünnungspuffer/Konjugatmischung* kann diese bei Raumtemperatur für eine beliebig lange Zeitdauer bis max. 24 Stunden vor dem Übertragen auf die *Testkarte* inkubiert werden.
3. Mithilfe einer Einweg-Transferpipette (auf 25 µL, 400 µL und 500 µL geeicht) übertragen Sie 400 µL der verdünnten Proben-Konjugatmischung in die ***Probenvertiefung*** (kleineres Loch in der oberen rechten Ecke der Karte) einer *Testkarte*. Stellen Sie dabei sicher, dass die flüssige Probe auf das Wicking-Pad im Inneren der *Testkarte* gelangt.
4. Inkubieren Sie die *Testkarte* 15 Minuten bei Raumtemperatur – die Probe sickert durch die Karte und eine Feuchtstelle breitet sich im *Reaktionsfenster* (größeres Loch in der Mitte der *Testkarte*) aus.

HINWEIS FÜR PROBEN, DIE NICHT MIGRIEREN:

In manchen Fällen kann eine verdünnte Stuhlprobe nicht getestet werden, weil sie die Membranen verstopft und das Reaktionsfenster nicht richtig feucht wird. Wenn die verdünnte Stuhlprobe innerhalb von 5 Minuten nach Zugabe der Probe in die Probenvertiefung nicht richtig migriert (d.h. die Membran im Reaktionsfenster ist nicht vollständig durchfeuchtet), so geben Sie 100 µL (4 Tropfen) Verdünnungspuffer in die Probenvertiefung und warten weitere 5 Minuten (insgesamt 20 Minuten).

5. Nach der Inkubation geben Sie 300 µL *Waschpuffer* in das ***Reaktionsfenster***. Verwenden Sie dazu den geeichten weißen Tropfer (oder Ähnliches). Warten Sie, bis der *Waschpuffer* durch die Membran des *Reaktionsfensters* geflossen und vollständig absorbiert ist.
6. Fügen Sie dem ***Reaktionsfenster*** 2 Tropfen *Substrat* (Flasche mit weißem Verschluss) bei. Ergebnisse nach 10 Minuten visuell ablesen und aufzeichnen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

1. Die Interpretation des Tests ist am verlässlichsten, wenn die Ergebnisse sofort nach Ende der Reaktionszeit abgelesen werden. Lesen Sie die *Testkarte* bei normalem

Arbeitsabstand und in einer gut beleuchteten Umgebung ab. Folgen Sie einer Sichtlinie direkt über der Testkarte.

- Prüfen Sie, ob auf der „C“-Seite des *Reaktionsfensters* eine blaue Linie, die sogenannte interne Positivkontrolllinie, sichtbar ist. Prüfen Sie, ob eine blaue Linie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters*, die sogenannte Testlinie, sichtbar ist. Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein.
- Positives Ergebnis:** Ein positives Ergebnis kann innerhalb des Zeitraums zwischen der Beigabe des *Substrats* und der 10-minütigen Ablesezeit interpretiert werden. Zwei blaue Linien sind sichtbar, die Kontrolllinie („C“) und die Testlinie („T“). Die Farbintensität der Linien kann schwach bis stark sein. Eine sichtbare blaue Linie auf der „T“-Seite mit gleichzeitiger blauer Kontrolllinie gilt als positives Ergebnis. Eine deutliche Teillinie gilt als positives Ergebnis. Interpretieren Sie Membranverfärbung oder –schatten nicht als positives Ergebnis. Ein positives Ergebnis zeigt an, dass *C. difficile*-Toxin vorhanden ist.
- Negatives Ergebnis:** Ein Test kann bis 10 Minuten nach der Beigabe des *Substrats* nicht als negativ oder ungültig interpretiert werden. Eine einzelne blaue Linie ist auf der Kontrollseite („C“) des *Reaktionsfensters* sichtbar und es ist keine Testlinie auf der „T“-Seite des *Reaktionsfensters* sichtbar (Abb. 1b). Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass entweder kein *C. difficile*-Toxin in der Probe vorhanden ist oder der Wert unterhalb der Nachweisgrenze des Tests liegt.
- Ungültiges Ergebnis:** Eine einzelne Linie ist auf der Testseite („T“) des *Reaktionsfensters* sichtbar oder keine Linien sind im *Reaktionsfenster* sichtbar (Abb. 1c, 1d). Ist auf der Testkarte nach abgeschlossener Reaktion keine Kontrolllinie sichtbar, ist der Test ungültig

ABBILDUNG 1: TOX A/B QUIK CHEK® INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Reaktions-
fenster

Probenvertiefung

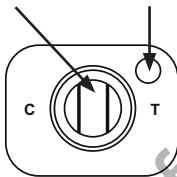


Fig. 1a. Positiv

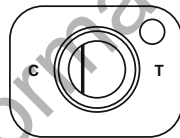


Fig. 1b. Negativ

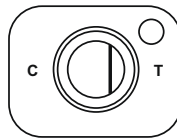


Fig. 1c. Ungültig

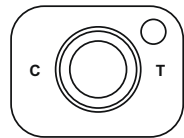


Fig. 1d. Ungültig

QUALITÄTSKONTROLLE

Intern: Auf jeder *Testkarte* muss nach dem Test eine blaue Kontrolllinie auf der „C“-Seite des *Reaktionsfensters* sichtbar sein. Die blaue Kontrolllinie bestätigt, dass Probe und Reagenzien korrekt zugegeben wurden, dass die Reagenzien während des Testverlaufs aktiv waren und dass eine korrekte Probenmigration durch die *Testkarte* stattgefunden hat. Ein farbloser Hintergrund im Ergebnisbereich gilt als interne negative Kontrolle. Bei korrekt durchgeführtem Test und ordnungsgemäßer Funktion der Reagenzien ist der Hintergrund farblos, um ein erkennbares Ergebnis zu liefern.

Extern: Die Reaktivität des *TOX A/B QUIK CHEK®*-Tests muss bei Erhalt mittels der *positive Kontrolle* und negative Kontrolle (*Verdünnungspuffer*) überprüft werden. Die *positive Kontrolle* ist im Kit enthalten (Flasche mit grauem Verschluss). Die *positive Kontrolle* dient zur Überprüfung der Reaktivität der anderen Testreagenzien und ist nicht zur Bestätigung der Verlässlichkeit beim Cut-off gedacht. Als negative Kontrolle wird der *Verdünnungspuffer* verwendet. Es können auch weitere Tests mit den Kontrollen durchgeführt werden, um die Anforderungen lokaler, landes- und/oder bundesweiter Verordnungen und/oder von Zertifizierungsbehörden zu erfüllen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Der *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test dient zum Nachweis von *C. difficile*-Toxin(en) in Stuhlproben. Der Test bestätigt das Vorhandensein von Toxin im Stuhl. Diese Information muss vom Arzt angesichts der Krankengeschichte und körperlichen Untersuchung des Patienten interpretiert werden. Der *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test weist Toxin A bei Konzentrationen von $\geq 0,63$ ng/mL und Toxin B bei Konzentrationen von $\geq 1,25$ ng/mL nach.
2. Stuhlproben sind überaus komplex. Optimale Ergebnisse werden beim *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test mit Proben erzielt, die weniger als 24 Stunden alt sind. Die meisten unverdünnten Proben können bei 2 °C - 8 °C für 72 Stunden gelagert werden, bevor ein deutlicher Verfall des Toxins beobachtet wird. Wenn die Proben nicht innerhalb dieses Zeitraums getestet werden, können sie eingefroren und später wieder aufgetaut werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen kann allerdings zu verminderter Immunreaktivität der Toxine A und B führen.
3. Einige Proben können schwach reagieren. Dies kann auf mehrere Faktoren zurückgeführt werden, wie etwa geringe Toxinkonzentration, das Vorhandensein bindender Substanzen oder inaktivierende Enzyme im Stuhl. *Unter diesen Bedingungen sollte eine neue Stuhlprobe getestet werden.* Zusätzliche Tests, die zusammen mit dem *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test durchgeführt werden können, sind toxinspezifische Kulturtests oder Gewebekultur-Zytotoxizitätstests für den Nachweis von *C. difficile* bzw. dessen Toxin(en).
4. Stuhlproben, die in 10 % Formalin, Merthiolat-Formalin, Natriumacetat-Formalin oder Polyvinylalkohol konserviert wurden, können nicht verwendet werden.
5. Der *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test ist qualitativ. Die Farbintensität darf nicht quantitativ interpretiert werden.
6. Einige Isolate von *C. sordellii* reagieren möglicherweise im *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test, da sie immunologisch verwandte Toxine produzieren (1).
7. Bei Kleinkindern wurden Kolonisationsraten von bis zu 50 % beobachtet. Auch bei Mukoviszidose-Patienten wurde eine hohe Rate beobachtet (1,3).

ERWARTUNGSWERTE

C. difficile-assoziierte Erkrankungen bei Patienten mit antibiotikabedingter Diarrhoe wurden mit einer Häufigkeit von 10-20 % festgestellt. In unseren Studien lag die Häufigkeit zwischen 10 –22%. Die Prävalenz eines positiven *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Tests ist von Ort zu Ort unterschiedlich. Krankenhäuser können auch niedrigere oder höhere Raten als jene an den Studienstandorten festgestellten aufweisen. *Clostridium difficile*-assoziierte Erkrankungen treten vor allem als nosokomiale Infektionen bei älteren Patienten auf. Krankenhäuser mit einem höheren Anteil an älteren Patienten können daher höhere Raten aufweisen. Die Testergebnisse müssen immer gemeinsam mit klinischen Symptomen interpretiert werden, denn einige gesunde Erwachsene sowie viele gesunde Kleinkinder (bis zu 50 %) weisen ein positives Testergebnis für *C. difficile*-Toxin auf.

LEISTUNGSDATEN

Der *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Test wurde mit dem Gewebekulturtest in drei Krankenhäusern in den USA sowie intern bei TECHLAB[®], Inc verglichen. Die dabei untersuchten Proben wurden für Routinetests an das klinische Labor gesandt. Der Gewebekulturtest wurde nach dem internen Verfahren durchgeführt. In der folgenden Tabelle sind die klinischen Leistungsdaten des *TOX A/B QUIK CHEK*[®]-Tests zusammengefasst. Der Test wies eine Sensitivität und Spezifität von 90,2% bzw. 99,7% auf. Die positiven und negativen Vorhersagewerte lagen bei 98,6% bzw. 97,9%, die Korrelation betrug 98,0%.

Tabelle 1. Korrelation des TOX A/B QUIK CHEK®-Tests mit einem Gewebekulturtest.

N = 842	Gewebekultur-positiven	Gewebekultur-negativen
TOX A/B QUIK CHEK® positiven	138	2
TOX A/B QUIK CHEK® negativen	15	687

		95% CI
Sensitivität	90,2%	84,1 - 94,2
Spezifität	99,7%	98,8 - 99,9
Positiver Vorhersagewert	98,6%	94,4 - 99,8
Negativer Vorhersagewert	97,9%	96,4 - 98,7
Korrelation	98,0%	97,8 - 98,2

Von den 2 Gewebekultur-negativen/TOX A/B QUIK CHEK®-positiven Proben lieferte eine bei einem handelsüblichen ELISA für den Nachweis von Toxin A und B ein negatives Ergebnis. Von den 15 Gewebekultur-positiven/TOX A/B QUIK CHEK®-negativen Proben lieferten 12 bei einem handelsüblichen ELISA für den Nachweis von Toxin A und B ein negatives Ergebnis. 9 Proben konnten nicht abgelesen werden. Alle Proben lieferten bei der PCR-Untersuchung auf Toxin A (*tcdA*) und Toxin B (*tcdB*) – Gene ein negatives Ergebnis.

Insgesamt wurden 51 in Cary Blair und 32 in C&S Transportmedien verdünnte Stuhlproben mit dem TOX A/B QUIK CHEK®-Test getestet. Die Ergebnisse wurden mit jenen aus Routinetests verglichen. Der Test wies eine Übereinstimmung von 97,6% für den Nachweis von *C. difficile* –Toxinen in Proben aus Transportmedien auf.

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Der Test war bei einer Konzentration von 0,63 ng/mL für Toxin A und 1,25 ng/mL für Toxin B durchgehend positiv.

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des TOX A/B QUIK CHEK® Tests wurde anhand bekannter positiver (n=6) und negativer (n=2) Stuhlproben bestimmt, die zur Identifikationsverhinderung während des Tests kodiert und sortiert wurden. Die Tests wurden vor Ort in 3 Labors an 3 Tagen durchgeführt. Die Proben lieferten zu 100% erwartete Ergebnisse.

KREUZREAKTIVITÄT

Mit folgenden Mikroorganismen (bis zu einer Endkonzentration von ca. 10⁸ oder mehr Organismen/mL) beimpfte Stuhlproben zeigten beim TOX A/B QUIK CHEK® keine Reaktion:

Bakterien: *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Clostridium bifermentans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii* (nicht-toxigen), *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 0157 H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*

Viren: Adenoviren 1,2,3,5,40,41, humaner Coronavirus, Coxsackievirus B2,B3,B4,B5, Echovirus 9,11,18,22,33, Enteroviren 68,69,70,71.

Der einzige nicht-*C-difficile*-Organismus, der mit dem *TOX A/B QUIK CHEK*[®] reagierte, war *C. sordellii* VPI 9048. Dieser Stamm produziert HT- und LT-Toxine, die Toxin A bzw. Toxin B entsprechen.

INTERFERENZSUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen wirkten sich, wenn in den angegebenen Konzentrationen im Stuhl vorhanden, nicht auf die Testergebnisse aus: Mucin (3,5% w/v), humanes Blut (40% v/v), Bariumsulfat (5% w/v), Imodium[®] (5% w/v), Kaopectate[®] (5 mg/mL), Pepto-Bismol[®] (5% w/v), Stearinsäure/Palmitinsäure (40% w/v), Metronidazol (0,25% w/v), Vancomycin (0,25% w/v).

For Informational Use Only

TOX A/B QUIK CHEK® - FRANÇAIS

UTILISATION PRÉVUE

Le test TOX A/B QUIK CHEK® est un immunoessai rapide permettant de détecter les toxines A et B du *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles chez les personnes suspectées de maladie du *C. difficile*. Le test doit être utilisé pour permettre de diagnostiquer la maladie du *C. difficile* et les résultats doivent être évalués en association avec le passé médical du patient.

Attention: la loi fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux médecins ou sur prescription médicale.

EXPLICATION

Après un traitement antibiotique, de nombreux patients développent des problèmes gastro-intestinaux pouvant aller d'une légère diarrhée à des colites pseudomembraneuses. De nombreuses formes légères de maladies gastro-intestinales et la plupart des cas de colites pseudomembraneuses sont dues à des souches toxigènes de *Clostridium difficile* (1). Cet organisme est une bactérie anaérobie à germes opportunistes qui se développent dans l'intestin dès que la flore normale a été modifiée par l'antibiotique. Les souches toxigènes de *C. difficile* sont porteuses de gènes qui codent les toxines alors que les souches non toxigènes ne sont pas porteuses de gènes de toxines. La maladie est le résultat des toxines produites par l'organisme toxigène. Les symptômes cliniques associés à la maladie sont d'abord considérés comme étant dus à la toxine A, une entérotoxine qui abîme les tissus (2,3). Le *C. difficile* produit également une deuxième toxine appelée toxine B. Cette dernière, qui est considérée comme la cytotoxine de l'organisme, est détectée lors de l'essai par culture tissulaire actuellement utilisé dans de nombreux laboratoires. Les souches toxigènes du *C. difficile* produisent les deux toxines ou uniquement la toxine B (4-7).

PRINCIPE DU TEST

Le test TOX A/B QUIK CHEK® utilise des anticorps spécifiques aux toxines A et B du *C. difficile*. Le dispositif comporte une *Fenêtre de réaction* avec deux lignes verticales d'anticorps immobilisés (Fig. 1a). La ligne de test ("T") comporte des anticorps contre les toxines A et B du *C. difficile*. La ligne de contrôle ("C"), comporte des anticorps anti-IgG. Le *Conjugué* est composé d'anticorps contre les toxines A et B conjugués à la peroxydase de raifort. Pour réaliser le test, l'échantillon est ajouté à un tube contenant un mélange de *Diluant* et de *Conjugué*. Le mélange conjugué-échantillon dilué est placé dans la *Coupelle de test* et le dispositif subit une période d'incubation de 15 minutes à température ambiante. Pendant l'incubation, les toxines A et B de l'échantillon sont mélangées avec le conjugué anticorps-peroxydase antitoxine. Les complexes anticorps-toxines migrent à travers une rondelle filtrante vers une membrane où ils sont capturés par les anticorps antitoxines immobilisés sur la ligne. La *Fenêtre de réaction* est ensuite nettoyée à l'aide du *Tampon de lavage* puis le test est exécuté avec l'adjonction d'un *Substrat*. Au bout de 10 minutes d'incubation, on observe visuellement la réaction "T" et l'apparition d'une ligne bleue verticale du côté "T" de la *Fenêtre de réaction*. Une ligne bleue révèle un test positif. Une réaction positive "C", indiquée par une ligne bleue verticale du côté du "C" de la *Fenêtre de réaction*, confirme que le test fonctionne correctement et que les résultats sont valides.

MATIÈRES FOURNIES

MEM	DEV
DIL	SPE

Dispositifs à membranes – 25 sachets contenant chacun 1 dispositif
Diluant (14 mL) – Solution tamponnée et protéinée contenant 0,02 % de thimérosal avec compte-gouttes gradué*

Danger H360 - Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.

H412 - Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

P201, P202, P273, P280, P308+P313, P405, P501



WASH REAG

Tampon de lavage (10 mL) – Solution tamponnée contenant 0,02 % de thimérosal avec compte-gouttes gradué*

SUBS REAG

Substrat (3,5 mL) – Solution contenant du tétraméthylbenzidine

CONJ ENZ

Conjugué (2 mL) – Anticorps monoclonal de souris spécifique à la toxine A conjugué à la peroxydase de raifort et anticorps polyclonal de chèvre spécifique à la toxine B conjugué à la peroxydase de raifort dans une solution tamponnée de protéines contenant 0,02 % de thimérosal*

CONTROL *

Contrôle positif (1 mL) – Antigène dans une solution tamponnée et protéinée

Pipettes de transfert jetables en plastique – 50 (graduées à 25 µL, 400 µL et 500 µL)

* contient du mercure



MATIÈRES ET MATÉRIEL NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

Petits tubes à essai (par exemple des tubes en plastique Eppendorf)

Écouvillons

Minuterie

Agitateur vortex

Pipetteur et embouts

Gants jetables pour manipuler les échantillons de selles

DURÉE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration du kit est indiquée sur l'étiquette. La date d'expiration de chaque composant est indiquée sur chaque étiquette. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2° et 8°C.

PRÉCAUTIONS À PRENDRE

1. Rx Only - Sur ordonnance uniquement
2. Pour une utilisation diagnostique *in vitro*. Uniquement à usage professionnel.
3. Les réactifs des différents kits ne doivent pas être mélangés. N'utilisez pas de kit dont la date d'expiration serait dépassée.
4. Placez tous les composants à TEMPÉRATURE AMBIANTE AVANT UTILISATION !
5. Les capsules, les embouts et les compte-gouttes sont classés par couleur. Ne les mélangez pas !
6. Ne congélez pas les réactifs. Le kit doit être conservé à une température comprise entre 2°C et 8°C.
7. Le sachet contenant le *Dispositif à membrane* doit avoir été conservé à température ambiante avant d'être ouvert et il doit être ouvert juste avant son utilisation. Maintenez les dispositifs à membranes au sec avant de les utiliser.
8. Utilisez les échantillons de selles dans les 72 heures suivant le prélèvement, et ce afin d'obtenir les meilleurs résultats possibles. Les échantillons congelés peuvent être moins actifs suite à la congélation et à la décongélation.
9. Les échantillons conservés dans 10 % de formol, de formol thimérosal, dans du formol d'acétate de sodium ou de l'alcool polyvinylique ne peuvent pas être utilisés.
10. Les échantillons introduits dans un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S peuvent être utilisés comme indiqué dans le protocole de préparation des échantillons.
11. Versez les réactifs en tenant les flacons à réactifs verticalement de façon à dispenser une goutte de taille adéquate.
12. Après leur utilisation, les échantillons et les dispositifs à membranes doivent être manipulés et jetés de la même façon que des matières présentant un danger biologique. Équipez-vous de gants jetables pendant le test.
13. Les dispositifs à membranes ne peuvent pas être réutilisés.
14. Le test a été optimisé dans le sens de la sensibilité et de la spécificité. Toute modification de la procédure spécifiée et/ou des conditions de test peut altérer la sensibilité et la spécificité du test. Procédez conformément à la procédure spécifiée.
15. La contamination microbienne des réactifs peut réduire l'exactitude de l'analyse. Évitez la contamination microbienne des réactifs en utilisant des pipettes stériles jetables si vous retirez les aliquots des flacons à réactifs.
16. Soyez attentif à la durée totale de l'analyse si vous testez plusieurs échantillons de selles. Ajoutez d'abord le *Diluant* puis le *Conjugué* dans chaque tube de *Diluant*.

Introduisez ensuite l'échantillon dans le tube de *Diluant/Conjugué*. Mélangez complètement tous les échantillons dilués puis transférez-les dans le *Dispositif à membrane*. L'étape d'incubation de 15 minutes commence dès que le dernier mélange conjugué-échantillon dilué est transféré sur le dernier *Dispositif à membrane*.

17. Si le *Substrat* prend une couleur bleu foncé / violet, appeler les services techniques pour procéder à un remplacement.
18. Les réactifs contiennent du thimérosal qui permet de les conserver. Manipuler les réactifs selon les réglementations existantes relatives à la sécurité des laboratoires et les bonnes pratiques de laboratoire. Les fiches de sécurité de ce produit sont disponibles à la demande. Contacter le support technique.
19. Respecter les arrêtés locaux, régionaux et nationaux relatifs aux réglementations sur l'élimination des déchets. Ne pas les jeter avec les déchets ménagers mais avec les matières dangereuses.

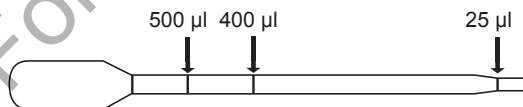
PRÉLÈVEMENT ET MANIPULATION DES ÉCHANTILLONS DE SELLES

1. Les procédures standards utilisées sur place pour le prélèvement et la manipulation des échantillons de selles sont considérées appropriées. Les échantillons doivent être stockés à une température comprise entre 2°C et 8°C. Utilisez de préférence des échantillons de moins de 24 heures.
2. Congelez les échantillons ($\leq -10^{\circ}\text{C}$) si le test ne peut être réalisé dans un délai de 72 heures après le prélèvement. Attention : la congélation et la décongélation d'un échantillon peuvent entraîner une perte d'activité due à la dégradation des toxines.
3. Veillez à ce que les échantillons soient bien mélangés AVANT de réaliser l'essai.
4. Le stockage des échantillons de selles dans le *Diluant* est déconseillé.
5. Ne pas laisser les échantillons de selles dans le *Diluant/Conjugué* pendant une période supérieure à 24 heures.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Placez tous les réactifs et le nombre de dispositifs nécessaires à température ambiante avant de les utiliser.
2. Préparez et étiquetez un petit tube à essai pour chaque échantillon et pour chaque contrôle supplémentaire externe.
3. Ajoutez 500 μL de *Diluant* dans chaque tube à échantillons de selles à l'aide du compte-gouttes noir gradué (ou équivalent). Pour les échantillons provenant d'un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S, ajoutez 425 μL de *Diluant* dans le tube.
4. Ajoutez une goutte de *Conjugué* (bouteille à capsule rouge) dans chaque tube.
5. Prenez une pipette de transfert jetable en plastique (fournie avec le kit) pour chaque échantillon – les pipettes sont graduées de 25 μL , 400 μL et 500 μL .

Pipette de transfert graduée:



6. Mélangez complètement tous les échantillons indépendamment de leur consistance. Les échantillons doivent tous être parfaitement suspendus avant transfert.

Échantillons liquides ou semi-solides – Prélevez 25 μL d'échantillon avec une pipette de transfert (graduée de 25 μL , 400 μL et 500 μL) puis versez l'échantillon dans le mélange *Diluant/Conjugué*. Utilisez la même pipette de transfert pour mélanger l'échantillon dilué.

Échantillons formés ou solides – Veillez à ajouter la quantité adéquate d'échantillons de selles au mélange témoin. Mélangez complètement l'échantillon à l'aide d'un écouvillon en bois et transférez un petit fragment (de 2 millimètres de diamètre environ, équivalent à 25 μL) de l'échantillon dans le mélange *Diluant/Conjugué*. Émulsionnez

l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.

Échantillons de selles provenant d'un milieu de transport tel qu'un Cary Blair ou un C&S – Prélevez 100 µL d'échantillon et introduisez-les dans le mélange *Diluant/Conjugué*.

7. **Échantillons témoins externes facultatifs :**

Contrôle positif externe – Ajoutez une goutte de *Contrôle positif* (bouteille à capsule grise) dans le tube à essai approprié.

Contrôle négatif externe – Ajoutez 25 µL de *Diluant* dans le tube à essai approprié.

REMARQUE : Si le fragment transféré est trop petit, si le mélange est défectueux ou si l'échantillon n'est pas complètement suspendu dans le mélange dilué, les résultats obtenus peuvent s'avérer faussement négatifs. Une trop grosse quantité de selles peut donner des résultats nuls à cause du débit limité.

PROCÉDURE DE TEST

1. Prenez un *Dispositif à membrane* par échantillon et un dispositif par contrôle facultatif externe positif ou négatif. Les sachets en aluminium contenant les dispositifs doivent être mis à température ambiante avant ouverture. Étiquetez correctement chaque dispositif et placez-les sur une surface plane de telle sorte que la lettre "C" du dispositif soit du côté gauche, la lettre "T" du côté droit et que la *Coupelle de test* soit située dans le coin supérieur droit du dispositif (Fig. 1a).
2. Fermez chaque tube d'échantillon dilué et mélangez complètement. Pour obtenir un mélange approprié, procédez par mixage ou agitation du tube. Dès qu'un échantillon de patient ou un Contrôle positif a été dilué dans le mélange *Diluant/Conjugué*, il peut être incubé à température ambiante pendant d'importe quelle durée jusqu'à 24 heures avant d'être ajouté au *Dispositif à membrane*.
3. À l'aide d'une pipette de transfert (graduée de 25 µL, 400 µL et 500 µL), transférez 400 µL du mélange échantillon-conjugué dilué dans la *Coupelle de test* (petite concavité située dans le coin supérieur droit du dispositif) d'un *Dispositif à membrane*, en veillant à bien expulser l'échantillon liquide sur la garniture perméable située à l'intérieur du *Dispositif à membrane*.
4. Laissez incuber le dispositif à température ambiante pendant 15 minutes – l'échantillon sera absorbé par le dispositif et une zone humide apparaîtra dans la *Fenêtre de réaction* (grande concavité située au centre du dispositif).

NOTE CONCERNANT LES ÉCHANTILLONS NE MIGRANT PAS :

Il peut arriver qu'un échantillon de selles dilué ne puisse pas être analysé parce qu'il obstrue la membrane et la Fenêtre de réaction ne s'imbibe pas correctement. Si l'échantillon de selles dilué ne semble pas migrer correctement 5 minutes après avoir versé l'échantillon dans la Coupelle de test (si la membrane de la Fenêtre de réaction ne semble pas être complètement humide), ajoutez 100 µL (4 gouttes) de Diluant dans la Coupelle de test et attendez 5 minutes supplémentaires (20 minutes au total).

5. Après incubation, ajoutez 300 µL de *Tampon de lavage* à l'aide du compte-gouttes blanc gradué (ou équivalent) dans la *Fenêtre de réaction*. Laissez le *Tampon de lavage* pénétrer la *Fenêtre de réaction* et veillez à ce qu'il soit complètement absorbé.
6. Verser 2 gouttes de *Substrat* (bouteille à capsule blanche) dans la *Fenêtre de réaction*. Lisez et consignez les résultats visuels observés au bout de 10 minutes.

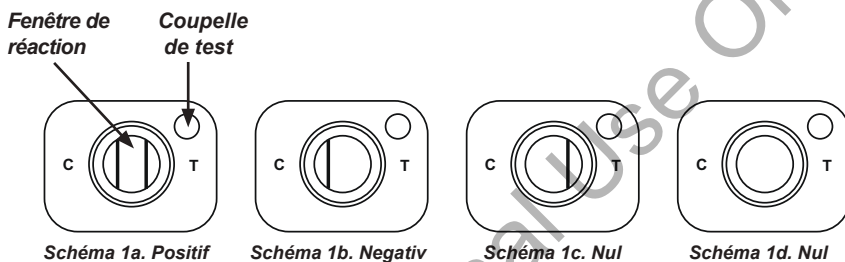
INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. L'interprétation du test est plus fiable lorsque le dispositif est lu immédiatement à la fin de la période de réaction. Lisez le dispositif à une distance normale dans un secteur bien éclairé en regardant directement le dessus du dispositif à la verticale.
2. Observez l'apparition d'une ligne bleue du côté "C" de la *Fenêtre de réaction* : c'est la ligne de contrôle positif interne. Observez l'apparition d'une ligne bleue du côté "T" de la *Fenêtre de réaction* : c'est la ligne de test. Les lignes peuvent présenter une couleur légèrement foncée.
3. **Résultat positif** : Un résultat positif peut être interprété à tout moment entre l'adjonction de *Substrat* et le temps de lecture (10 minutes). Deux lignes bleues sont visibles : la ligne de contrôle ("C") et la ligne de test ("T"). Les lignes peuvent présenter

une couleur légèrement foncée. L'apparition d'une ligne bleue du côté "T" et d'une ligne de contrôle bleue est interprétée comme résultat positif. Une ligne partielle évidente est interprétée comme résultat positif. La décoloration ou l'assombrissement de la membrane ne peuvent être interprétés comme résultats positifs. Un résultat positif indique la présence de toxine *C. difficile*.

- Résultat négatif :** Les tests ne peuvent pas être interprétés comme négatifs ou invalides moins de 10 minutes après l'adjonction du *Substrat*. Une ligne bleue simple est visible du côté contrôle ("C") de la *Fenêtre de réaction* et aucune ligne de test n'est visible du côté "T" de la *Fenêtre de réaction* (Fig. 1b). Un résultat négatif indique soit l'absence de toxine *C. difficile* dans l'échantillon, soit que le taux de toxine est inférieur à la limite de détection du test.
- Résultat nul :** Une ligne simple est visible du côté test ("T") de la *Fenêtre de réaction* ou aucune ligne n'est visible dans la *Fenêtre de réaction* (Fig. 1c, 1d). Le résultat du test est invalide si aucune ligne de contrôle n'est visible à l'issue de la période de réaction.

FIGURE 1 : TOX A/B QUIK CHEK® INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS



CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Interne : Une ligne de contrôle bleue doit être visible du côté "C" de la *Fenêtre de réaction* sur chaque *Dispositif à membrane* testé. L'apparition de la ligne de contrôle bleue confirme que l'échantillon et les réactifs ont été correctement ajoutés, que les réactifs étaient actifs au moment de la réalisation de l'essai et que l'échantillon a bien migré via le *Dispositif à membrane*. Un résultat clairement hors essai est considéré comme contrôle interne négatif. Si le test a été réalisé correctement et les réactifs fonctionnent, le résultat hors essai sera clair afin de fournir un résultat discernable.

Externe : La réactivité du test *TOX A/B QUIK CHEK®* doit être vérifiée dès réception à l'aide du *Contrôle positif* et du contrôle négatif (*Diluant*). Le *Contrôle positif* est fourni avec le kit (bouteille à capsule grise). Le *Contrôle positif* permet de confirmer la réactivité des autres réactifs associés à l'essai mais il ne permet pas de garantir la précision à la fin de l'essai analytique. Le *Diluant* est utilisé pour le contrôle négatif. Des tests supplémentaires peuvent être réalisés à l'aide des contrôles pour répondre aux exigences des règlements locaux, nationaux et/ou fédéraux et/ou des organismes d'accréditation.

LIMITES

- Le test *TOX A/B QUIK CHEK®* est utilisé pour détecter la ou les toxine(s) du *C. difficile* dans des échantillons de selles. Le test confirme la présence de toxines dans les selles et ces informations doivent être examinées par le médecin avec le dossier médical du patient et l'examen physique de ce dernier. Le *TOX A/B QUIK CHEK®* permet de détecter des niveaux de toxine A $\geq 0,63$ ng/mL et de toxine B $\geq 1,25$ ng/mL.
- Les échantillons de selles sont extrêmement complexes. Le test *TOX A/B QUIK CHEK®* permet d'obtenir des résultats optimaux si les échantillons ont été prélevés moins de 24 heures à l'avance. La plupart des échantillons non dilués peuvent être stockés à une température comprise entre 2°C et 8°C pendant 72 heures avant qu'une dégradation significative de la toxine ne puisse être observée. Si les échantillons ne sont pas testés pendant cette période, ils peuvent être congelés puis décongelés. Toutefois, des

congélation et des décongélation répétées peuvent entraîner l'immunoréactivité des toxines A et B.

- Certains échantillons peuvent créer des réactions faibles. Ce phénomène peut découler d'un certain nombre de facteurs tels que la présence de faibles niveaux de toxines, la présence de substances anticorps ou la désactivation des enzymes dans les selles. *Le cas échéant, testez un échantillon frais.* Des tests supplémentaires peuvent être réalisés en association avec le test **TOX A/B QUIK CHEK®**. Ils comprennent notamment la culture de souches toxigènes ou des essais de cytotoxicité par culture cellulaire pour détecter le *C. difficile* ou ses toxines.
- Les échantillons de selles conservés dans 10 % de formol, de formol thimérosal, dans du formol d'acétate de sodium ou de l'alcool polyvinylique ne peuvent pas être utilisés.
- Le test **TOX A/B QUIK CHEK®** est un test de qualité. L'intensité de la couleur ne doit pas être interprétée en termes quantitatifs.
- Certains isolats du *C. sordellii* peuvent réagir lors du test **TOX A/B QUIK CHEK®** suite à la production de toxines immunologiquement associées (1).
- Des taux d'infestation pouvant atteindre 50 % ont été signalés chez des enfants. Un niveau élevé a également été signalé chez des patients atteints de mucoviscidose (1,3).

VALEURS ATTENDUES

Les incidences de la maladie *C. difficile* signalées chez des patients présentant des diarrhées associées aux antibiotiques sont comprises entre 10 et 20 %. D'après nos études, ces incidences peuvent aller de 10 % à 22 %. La prévalence des résultats positifs au test **TOX A/B QUIK CHEK®** peut varier d'un site à un autre, les hôpitaux pouvant constater des taux inférieurs ou supérieurs à ceux observés aux endroits où cette évaluation a été réalisée. La maladie *Clostridium difficile* est principalement une maladie nosocomiale détectée chez les personnes âgées, les hôpitaux accueillant une population plus importante de patients âgés pouvant présenter des taux plus élevés. Il est important de considérer les résultats des tests en association avec les symptômes cliniques car certains adultes sains et un grand nombre d'enfants sains (jusqu'à 50 %) présentent des résultats positifs à la toxine du *C. difficile*.

EFFICACITÉ DU TEST

Le test **TOX A/B QUIK CHEK®** a été comparé à un essai par culture cellulaire dans trois hôpitaux étasuniens et en interne à TECHLAB®, Inc. Les échantillons testés lors de cette évaluation ont été soumis au laboratoire clinique pour des tests de routine. Le test par culture tissulaire a été réalisé selon les procédures internes. Le tableau ci-dessous offre un résumé de l'efficacité clinique du test **TOX A/B QUIK CHEK®**. Il a été établi que le test offre une sensibilité et une spécificité de 90,2 % et 99,7 %, respectivement. Les valeurs prédictives positives et négatives étaient de 98,6 % et 97,9 %, respectivement, et la corrélation de 98,0 %.

Tableau 1. Corrélation du test **TOX A/B QUIK CHEK®** avec culture tissulaire.

N = 842	Cult. Tiss. positif	Cult. Tiss. négatif
TOX A/B QUIK CHEK® positif	138	2
TOX A/B QUIK CHEK® négatif	15	687

	95% CI	
Sensitivity	90,2	84,1 - 94,2
Specificity	99,7	98,8 - 99,9
Predictive Positive Value	98,6	94,4 - 99,8
Predictive Negative Value	97,9	96,4 - 98,7
Correlation	98,0	97,8 - 98,2

Sur 2 échantillons ayant donné un résultat négatif à la culture cellulaire et un résultat positif au test *TOX A/B QUIK CHEK*®, 1 était négatif d'après le test commercial A+B ELISA. Sur 15 échantillons ayant donné un résultat positif à la culture cellulaire et un résultat négatif au test *TOX A/B QUIK CHEK*®, 12 étaient négatifs d'après le test commercial A+B ELISA. 9 échantillons étaient illisibles. Tous les échantillons ont donné un résultat négatif au test PCR pour détecter la présence des gènes des toxines A (*tcdA*) et B (*tcdB*).

Un total de 51 échantillons de selles dilués en milieu Cary Blair et de 32 échantillons de selles dilués en milieu C&S ont été testés à l'aide du *TOX A/B QUIK CHEK*®. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus par le test de routine. La détection de toxines *C. difficile* dans les échantillons dilués en milieux de transport concordait à 97,6 %.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE

Le test était uniformément positif à une concentration de 0,63 ng/mL pour la toxine A et de 1,25 ng/mL pour la toxine B.

REPRODUCTIBILITÉ

La reproductibilité du test *TOX A/B QUIK CHEK*® a été déterminée à l'aide d'échantillons de selles positifs (n=6) et négatifs (n=2) connus, codés et assortis pour éviter leur identification lors du test. Les tests ont été réalisés sur place par 3 laboratoires qui ont analysé les échantillons sur 3 jours. Les échantillons ont donné les résultats prévus sur toute la durée des essais.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

Les échantillons de selles inoculés à l'aide des micro-organismes suivants, pour une concentration finale d'environ 10⁸ ou supérieure d'organismes par mL, n'ont pas réagi au test *TOX A/B QUIK CHEK*® :

Bactéries : *Aeromonas hydrophila*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Clostridium bifementans*, *Clostridium butyricum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium septicum*, *Clostridium sordellii* (non toxigène), *Clostridium sporogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli*, *Escherichia coli* 0157 H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*.

Virus : Adénovirus types 1,2,3,5,40,41, Coronavirus humain, Coxsackievirus B2,B3,B4,B5, Échovirus 9,11,18,22,33, Entérovirus type 68,69,70,71.

Le seul organisme non-*C. difficile* ayant réagi au test *TOX A/B QUIK CHEK*® correspond au *C. sordellii* VPI 9048. Cette souche produit des toxines HT et LT homologues aux toxines A et B, respectivement.

INTÉRFÉRENCES ANALYTIQUES

Les substances suivantes n'ont pas modifié le résultat des tests lorsqu'elles étaient présentes dans les selles aux concentrations indiquées ci-après : mucine (3,5 % p/v), sang humain (40 % v/v), sulfate de baryum (5 % p/v), Imodium® (5 % p/v), Kaopectate® (5 mg/mL), Pepto-Bismol® (5 % p/v), acide stérique/palmitique (40 % p/v), Métronidazole (0,25 % p/v), Vancomycine (0,25 % p/v).

REFERENCES

1. Lyerly, D. M., H. C. Krivan, and T. D. Wilkins. 1988. *Clostridium difficile*: its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. 1:1-18.
2. Lyerly, D. M., K. E. Saum, D. K. MacDonald, and T. D. Wilkins. 1985. Effects of *Clostridium difficile* toxins given intragastrically to animals. Infect. Immun. 47: 349-352.
3. Borriello, S. P., F. E. Barclay, A. R. Welch, J. M. Ketley, T. J. Mitchell, J. Stephen, and G. E. Griffin. 1985. Host and microbial determinants of the spectrum of *Clostridium difficile* mediated gastrointestinal disorders. Microecol. Ther. 15:231-236.
4. Lyerly, D. M., N. M. Sullivan, and T. D. Wilkins. 1983. Enzyme-linked immunosorbent assay for *Clostridium difficile* toxin A. J. Clin. Microbiol. 17:72-78.
5. Laughon, B. E., R. P. Viscidi, S. L. Gdovin, R. H. Yolken, and J. G. Bartlett. 1984. Enzyme immunoassays for detection of *Clostridium difficile* toxins A and B in fecal specimens. J. Infect. Dis. 149: 781-788.
6. Lyerly, D. M., L. A. Barroso, and T. D. Wilkins. 1992. Characterization of a toxin A-/toxin B+ isolate of *Clostridium difficile*. Infect. Immun. 60: 4633-4639.
7. Dove, C. H., S.-Z. Wang, S. B. Price, C. J. Phelps, D. M. Lyerly, T. D. Wilkins, and J. L. Johnson. 1990. Molecular characterization of the *Clostridium difficile* toxin A gene. Infect. Immun. 58: 480-488.

Technical Support

Further information can be obtained by contacting TECHLAB® Technical Support:

US	+1 800 TECHLAB
Phone	(540) 953-1664
Fax	(540) 953-1665
Email	ts@techlab.com

© 2021 TECHLAB, Inc. All rights reserved.

TOX A/B QUIK CHEK, the TECHLAB Logo, and TECHLAB are trademarks of TECHLAB, Inc.

All other trademarks referenced are trademarks of their respective owners.