Tabla 2 – Característica de ejecución por edad del paciente

	Muestras Positivas			Muestras Negativas		
Edad Paciente	Premier GDH/ Cultivo	Sensitividad %	95% CI	Premier GDH/ Cultivo	Especificidad %	95% CI
0-28 días	0/0	N/A	N/A	1/1	100.0 %	20,7 – 100,0 %
29 días a2 años	22/24	91,7 %	74,2 – 97,7 %	56/60	93,3 %	84,1 – 97,4 %
> 2 años a < 12 años	24/25	96,0 %	80,5 – 99,3 %	106/109	97,2 %	92,2 – 99,1 %
12 años a < 18 años	9/11	81,8 %	52,3 – 94,9 %	59/61	96,7 %	88,8 – 99,1 %
18 años a 21 años	3/4	75,0 %	30,1 – 95,4 %	22/23	95,7 %	79,0 – 99,2 %
> 21 años	50/53	94,3 %	84,6 – 98,1 %	345/361	95,6 %	92,9 – 97,3 %
No Definido	0/0	N/A	N/A	1/1	100,0 %	20,7 – 100,0 %

REPRODUCIBILIDAD
Precisión del ensayo, variabilidad intra-ensayo y variabilidad inter-ensayo fueron evaluadas con un panel de referencia de un combinado de muestras negativas al que se le añadío antígeno GDH de *C. difficile*. El panel de reproducibilidad consistía de muestras positivas mediana (n=3), positivas bajas (n=3) y negativas altas (n=3) y negativas (n=1). Las muestras positivas bajas y negativas altas fueron preparadas cerca del corte del límite de detección. Cada muestra fue evaluada dos veces por día por cinco días por tres diferentes laboratorios. La reproducibilidad fue 100 % sin variabilidad en las pruebas de intra-ensayo y inter-ensayo con muestras preparadas abajo o arriba del límite de detección para el ensayo.

ESTUDIOS DE REACTIVIDAD CRUZADA
Los estudios de reactividad cruzada se realizaron con muestras de materia fecal positivas y negativas inoculadas con microorganismos bacterianos y fúngicos hasta lograr una concentración final equivalente a 1,2 x 10^8 UFC/mL, o una concentración viral mayor que 1 x 10^5 $TCID_{50}$/mL. Ninguno de los siguientes microorganismos presentes en la materia fecal reaccionó en la prueba Premier *C. difficile* GDH:
Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium butyricum, Clostridium bifermentans, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii, Clostridium tetani, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Escherichia coli O157:H7*, Escherichia hermannii, Escherichia fergusonii, Helicobacter pylori, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Listeria monocytogenes, Peptostreptococcus anaerobius, Plesiomonas shigelloides, Porphyromonas asaccharolytica, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Salmonella* Group B, *Salmonella* Group C, *Salmonella* Group D, *Salmonella* Group E, *Serratia liquifaciens, Serratia marcescens, Shigella boydii, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica,* Adenovirus Type 40, Adenovirus Type 41, Coxsackievirus Strain B4, Echovirus Strain 11, Rotavirus Strain WA

Se encontró que heces con *Staphylococcus aureus* (cepa Cowan I) y *Clostridium sporongenes* dan reacciones cruzadas con Premier *C. difficile* GDH.

SENSIBILIDAD ANALÍTICA
La sensibilidad analítica de la prueba Premier *C. difficile* GDH es 8 células/mL cuando es añadido en las heces.

REACTIVIDAD DE LA PRUEBA
Los siguientes cultivos de reserva de *C. difficile* obtenidos de distintas fuentes se analizaron y produjeron reacciones positivas a concentraciones de 5,7 x 10^7 UFC/mL con la prueba Premier *C. difficile* GDH.
Cepas toxigénicas de *C. difficile* 8864, 10463, 43598, 2004052, 2004111, 2004118, 2004205, 2004206, 2005070, 2005257, 2005325, 2006240, 2007431, 2007435, 2007858, 2008016, 2008029, 2008162, 2008188, 2008341, 2008351, 2009018, 2009065, 2009066, 2009099, 2009132, 2009155, 2009277, B1, BI17, BI8, BK6, CF1, G1, J7, K12, Y1

Cepas No-toxigénicas de *C. difficile* 11186, 234, 586, 611, 620, 2C62, 2C165, C122, UNC19904, X15076

PRUEBAS PARA EVALUACIÓN DE SUSTANCIAS INTERFERENTES
Las siguientes sustancias, a las concentraciones especificadas de solvente / diluyente saturado no interfieren con los resultados de la prueba a las concentraciones finales anotadas:
Sulfato de Bario a 5 mg/mL, Acido Estearico / Acido Palmitico (grasa fecal) a 2,65 mg/mL/1,3 mg/mL, Hemoglobina a 3,2 mg/mL, Imodium AD® (Loperamide HCl) a 6,67 x 10^{-3} mg/mL, Kaopectate® (Bismuth subsalicylate) a 0,87 mg/mL, Metronidazole a (12,5 mg/mL, Mucina a 3,33 mg/mL, Mylanta® (Ammonium hydroxide w/ magnesium hydroxide) a 4,2 mg/mL, Pepto Bismol® (Omeprazole) a 0,87 mg/mL, Polietileno glicol 3350 a 79,05 mg/mL, Prilosec® a 0,5 mg/mL, Simethicone a 0,625 mg/mL, Tagamet® (Cimetidine) a 0,5 mg/mL, Tums® (Calcium carbonate) a 0,5 mg/mL, Vancomicina hidroclorica a 2,5 mg/mL, Glóbulos blancos a 5%, Sangre completa a 25%

DEUTSCH

PREMIER®
C. difficile GDH

Enzym-Immunoassay zum Nachweis von *Clostridium-difficile*-GDH in Stuhlproben

REF 611096

IVD In-vitro-Diagnostikum

VERWENDUNGSZWECK
Premier *C. difficile* GDH ist ein qualitativer Enzym-Immunoassay-Screening-Test für den Nachweis von *Clostridium difficile*-Antigen, Glutamatdehydrogenase, in Stuhlproben von symptomatischen Personen, bei denen eine *C. difficile*-Infektion (CDI) vermutet wird. Dieser Test differenziert nicht zwischen toxigenen und nicht toxigenen *C.-difficile*-Stämmen. Proben von symptomatischen Patienten, die mit diesem Test positive Ergebnisse erbringen, sind weiteren Tests mit einem Assay zu unterziehen, die für den Nachweis von toxigenen *C. difficile*-Stämmen und die Unterstützung der CDI-Diagnose konzipiert sind.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS
Weltweit hat sich *Clostridium difficile* zum wichtigsten Verursacher nosokomialer Diarrhö entwickelt. *C.-difficile*-Infektionen (CDI) können von leichter Diarrhö bis hin zum lebensbedrohlichen toxischen Megakolon reichen. Zu den klassischen Risikofaktoren für nosokomiale CDI zählen Antibiotikaanwendung und höheres Alter. In letzter Zeit wurde CDI jedoch häufiger außerhalb der Krankenhausumgebung und ohne die in der Vergangenheit normalerweise mit *C.-difficile*-Infektionen assoziierten Risikofaktoren beobachtet.[1] *C.difficile* produziert zwei Toxine (Toxin A und Toxin B), die beide mit Krankheiten assoziiert sind, die von *C. difficile* verursacht werden. *C.-difficile*-Stämme ohne Toxin-A- und Toxin-B-Gene werden als nicht pathogen angesehen. Alle *C.-difficile*-Stämme produzieren Glutamatdehydrogenase (GDH), auch als gemeinsames Antigen („common antigen") bezeichnet.[2, 3] Nicht molekulare Labormethoden für den *C.-difficile*-Nachweis lassen sich in zwei allgemeine Gruppen einteilen: auf Toxinbasis und nicht auf Toxinbasis beruhende Methoden. Zu den Assays auf Toxinbasis zählen Enzym-Immunoassay (EIA) auf Toxin A oder die Toxine A und B und Zytotoxin, primär für den Nachweis von Toxin B. Nicht auf Toxinbasis beruhende Assays, wie bspw. EIA für *C. difficile* GDH, sind naturgemäß empfindlicher, erfordern jedoch eine Nachuntersuchung auf toxigene *C. difficile*.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN
Premier *C. difficile* GDH ist ein qualitativer Screening-Enzym-Immunoassay für den Nachweis von *Clostridium difficile*-Antigen, Glutamatdehydrogenase, in Stuhlproben von symptomatischen Personen, bei denen eine *C. difficile*-Infektion (CDI) vermutet wird. In abbrechbare Mikrovertiefungen, die mit Anti-GDH-Antikörpern (Kaninchen) beschichtet sind, werden verdünnte Patientenprobe und ein an Meerrettichperoxidase konjugierter Anti-GDH-Antikörper gegeben und inkubiert. Nach dem Abschluss der Inkubation wird ein Waschschritt durchgeführt, um ungebundenes Material zu entfernen. Bei Vorliegen von *C. difficile*-GDH bildet sich ein Antikörper-Enzymkomplex. Es wird ein chromogenes Substrat in die Mikrovertiefungen gegeben und inkubiert. Bei Vorliegen von gebundenem Enzym bildet sich eine blaue Färbung aus. Nach Zugabe von Stopplösung schlägt die anfängliche blaue Färbung ins Gelbe um. Die Auswertung der Testergebnisse erfolgt spektralphotometrisch.

REAGENZIEN/IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE ARTIKEL
Die Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Aussenseite der Packung angegeben.
1. **Premier-*C.-difficile*-GDH-Mikrovertiefungen:** Mit polyklonalem Antikörper beschichtete Mikrovertiefungen. Die Antikörper sind spezifisch für *C. difficile*-GDH.
2. **Premier-*C.-difficile*-GDH-Enzymkonjugat:** Konjugat aus HRP und polyklonalen spezifischen Antikörpern gegen *C. difficile*-GDH in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,1 % ProClin® und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmittel.
3. **Premier-Waschpuffer II (20fach konzentriert):** Konzentrierter Waschpuffer mit 0,2 % Thiomersal als Konservierungsmittel. Das Reagenz ist vor Gebrauch zu verdünnen.
4. **Premier-Substrat I:** Gepufferte Lösung mit Harnstoffperoxid und Tetramethylbenzidin (pH-Wert 5,0).
5. **Premier-Stopplösung I:** 1 M Phosphorsäure.
6. **Premier-*C.-difficile*-GDH-Probendiluent/Negativkontrolle:** Gepufferte Proteinlösung mit 0,1 % ProClin® und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmittel.
7. **Premier-*C.-difficile*-GDH-Positivkontrolle:** *C.-difficile*-GDH in einer gepufferten Proteinlösung mit 0,1 % ProClin® und 0,03 % Gentamicin als Konservierungsmitteln.
8. Transferpipetten
9. Mikrovertiefungsstreifenhalter
10. Mikrovertiefungsplattendichtungen

NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE ARTIKEL
1. Einmal-Handschuhe aus Latex
2. Teströhrchen (bspw. 10 x 75 mm oder 12 x 75 mm) für die Probenverdünnung
3. destilliertes oder entionisiertes Wasser
4. Spritzflasche
5. Messzylinder für die Herstellung von 1fach konzentriertem Waschpuffer
6. saugfähiges Papier
7. Abfallbehälter mit Desinfektionsmittel und/oder autoklavierbare Biomüllbeutel
8. Vortexmischer
9. Intervallzeitgeber
10. EIA-Mikrotiterplattenmessgerät für Extinktionen bei 450 bzw. 450/630 nm*
11. Inkubator/Rüttler StatFax™-2200 (StatFax™ ist eine Marke von Awareness Technology, Inc.)* (optional)*
12. Halbautomatisches Mikrotiterplattenwaschgerät (optional)*

*Hinweis: Der Benutzer ist dafür verantwortlich, das StatFax™-Gerät sowie die halbautomatischen Plattenwasch- und Messgeräte vor ihrem Einsatz mit diesem Produkt zu validieren.

VORSICHTSHINWEISE
1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
2. Mikrovertiefungen, Enzymkonjugat, Premier-Substrat I oder Positivkontrolle unterschiedlicher Chargennummern nicht gegeneinander austauschen. (Probendiluent/Negativkontrolle, Premier-Waschpuffer II [20fach konzentriert] und Premier-Stopplösung I können gegeneinander ausgetauscht werden, solange beim Gebrauch die Verfallsdaten nicht abgelaufen sind.)
3. Kitkomponenten nicht über das auf dem Etikett angegebene Verfallsdatum hinaus verwenden.
4. Keine Fläschchen ohne Etikett, Chargennummer oder Verfallsdatum verwenden.
5. Reagenzien bei Verfärbung oder Trübheit nicht verwenden. Verfärbung oder Trübheit können Anzeichen einer mikrobiellen Kontaminierung sein.
6. Reagenzien vor Gebrauch auf 21–27 C aufwärmen lassen.
7. Alle Reagenzien vor Gebrauch behutsam mischen.
8. Die Reagenzienfläschchen in angemessenem Abstand und senkrecht über die Vertiefung halten, um eine einheitliche Tropfengröße und Einbringung zu gewährleisten.
9. Die farbigen Verschlüsse wieder auf den richtigen Fläschchen anbringen.
10. Die Mikrovertiefungen nicht wieder verwenden.
11. Nicht gebrauchte Mikrovertiefungen müssen wieder im verschließbaren Beutel verwahrt werden. Es ist wichtig, dass die Streifen vor Feuchtigkeit geschützt sind.
12. Für Probenvorbereitung und -transfer müssen die im Lieferumfang dieses Kits enthaltenen Transferpipetten verwendet werden (je eine pro Probe).
13. Um beim Einbringen des verdünnten Stuhls in die Mikrovertiefungen Spritzer zu vermeiden, die Spitze der Transferpipette zur Hälfte in die Vertiefung tauchen und die Probe langsam an der Seite der Vertiefung herunterlaufen lassen.
14. Den Mikrovertiefungswaschgang exakt gemäß den Anweisungen für das Assayverfahren durchführen. **Ein unzureichendes Waschen kann bei jedem EIA-Protokoll zu erhöhten Hintergrundwerten führen.**
15. Alle Reagenzien werden bereits auf die korrekte Konzentration verdünnt geliefert (mit Ausnahme des 20fach konzentrierten Premier-Waschpuffers II).
16. Alle Abweichungen (nach oben oder unten) von den festgelegten Inkubationsdauern können sich auf die Empfindlichkeit und die Spezifität auswirken und sind zu vermeiden.
17. Der Stuhl ist ungeachtet seiner Konsistenz vor dem Pipettieren gut zu mischen, um eine repräsentative Probe zu gewährleisten.

WARNHINWEISE
1. Patientenproben können Krankheitserreger enthalten und sind daher als potenziell biogefährliche Substanzen zu handhaben und zu entsorgen.
2. Gebrauchten Waschpuffer und alle Testmaterialien in einem geeigneten Behälter entsorgen. Abfälle sind als potenziell biogefährliche Substanzen zu erachten.
3. Die Positivkontrolle enthält *C. difficile*-GDH. Sie sollte als potenziell biogefährlich gehandhabt werden.
4. Hautkontakt mit Premier-Stopplösung I vermeiden. Bei Kontakt unverzüglich mit Wasser abspülen.

GEFÄHRDUNGEN UND SICHERHEITSHINWEISE
Für weitere Informationen zu den Gefahren- und Sicherheitshinweisen, beziehen Sie sich auf die SDS, die unter folgendem Link verfügbar sind: www.meridianbioscience.com (US version) / www.meridianbioscience.eu (EU version).

HALTBARKEIT UND LAGERUNG
Das Kit-Verfallsdatum ist auf dem Kit-Etikett angegeben. Den Kit bei 2–8 C lagern und nach jedem Gebrauch unverzüglich wieder in den Kühlschrank stellen.

VERFAHRENSANMERKUNGEN
Die Premier-*C. difficile*-GDH-Transferpipette ist im Folgenden abgebildet.

REAGENZIENVORBEREITUNG
1. Den gesamten Kit, einschließlich des Beutels mit Mikrovertiefungen, vor Gebrauch auf Raumtemperatur 21–27 C bringen.
2. Den 1fach konzentrierten Waschpuffer nach Bedarf herstellen. Beispielsweise: 10,0 mL des 20fach konzentrierten Premier-Waschpuffers II + 190,0 mL destilliertes oder entionisiertes Wasser sind ausreichend zum Waschen eines Streifens. Der 1fach konzentrierte Waschpuffer kann bei 21–27 C bis zu drei Monate lang gelagert werden.

PROBENNAHME UND -VORBEREITUNG

Humane Stuhlproben, ohne Konservierungsmittel: Die Proben müssen in luftdicht verschlossene Transportbehälter eingebracht werden und bis zum Testen bei 2–8 C gelagert werden. Die Proben sind so bald wie möglich zu testen, können jedoch bei 2–8 C bis zu fünf Tage lang aufbewahrt werden. (Siehe Anweisungen zum Verdünnen von Proben im Abschnitt PROBENVORBEREITUNG.) Proben, die voraussichtlich nicht innerhalb von fünf Tagen getestet werden, sind unmittelbar nach Eingang einzufrieren und bis zum Test bei ≤ –20 C zu lagern. Die Proben können bis zu zwei Monate lang eingefroren und zweimal eingefroren und aufgetaut werden.

PROBENVORBEREITUNG

Den Stuhl vor dem Pipettieren möglichst gründlich mischen.

1. **Humane Stuhlproben, ohne Konservierungsmittel:**
   a. Mit Hilfe der Tropfereinheit (oder eines vergleichbaren Produkts) 200 µL Probendiluent/Negativkontrolle in ein kleines Teströhrchen geben.
   b. **Flüssige/halbfeste Stuhlproben**:
      i. Mit Hilfe einer der im Lieferumfang des Kits enthaltenen Transferpipetten 50 µL (erste Markierung ab der Pipettenspitze) gut durchgemischten Stuhls in das Röhrchen mit Probendiluent/Negativkontrolle geben.
      ii. Das Gemisch mindestens 15 Sekunden lang mit dem Vortexmischer mischen.
      iii. Die Transferpipette zur späteren Verwendung im Teströhrchen aufbewahren.
   c. **Stuhlproben verdünnt in Probendiluent**: Wenn nötig, kann die in Probendiluent verdünnte Stuhlprobe vor dem Testen bis zu 24 Stunden bei 2–27 C gelagert werden, sofern das Teströhrchen verschlossen ist.
   d. Die Stuhlproben können nach der Verdünnung zentrifugiert werden. Die Proben bei ungefähr 2750 *g* 3 Minuten lang zentrifugieren bzw. bis sich die festen Bestandteile von der Flüssigkeit trennen. Den Test mit dem gewonnenen Überstand durchführen.

TESTVERFAHREN

1. Nachdem der Beutel eine Temperatur zwischen 21 und 27 C erreicht hat, die benötigte Anzahl Mikrovertiefungen abbrechen (je 1 Vertiefung pro Probe, plus 1 Positiv- und 1 Negativkontrolle-Vertiefung pro Ansatz). Die Mikrovertiefungen in den Mikrovertiefungsstreifenhalter geben und die Position der einzelnen Vertiefungen notieren. Nicht benötigte Mikrovertiefungen sofort wieder im Beutel verschließen.
2. Mit Hilfe der Probentransferpipette 100 µL verdünnten Stuhls (zweite Markierung ab der Pipettenspitze) in die entsprechende Vertiefung geben. (Die Pipettenspitze zur Hälfte in die Vertiefung tauchen und die Probe langsam an der Seite der Vertiefung herunterlaufen lassen.)
3. Zwei frei fallende Tropfen Positivkontrolle hinzugeben. Mit Hilfe einer Transferpipette 100 µL (zweite Markierung ab der Pipettenspitze) Probendiluent/Negativkontrolle in die entsprechenden Vertiefungen geben.
4. Einen frei fallenden Tropfen (ca. 50 µL) Enzymkonjugat in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig rütteln/schwenken.
5. Die Plattendichtung zurechtschneiden und zum Abdichten fest auf die Oberseite der Mikrovertiefungen drücken. Die Platte 50 Minuten lang bei 35–39 C inkubieren. **Alternativ dazu können Labors, die mit einem heizbaren Plattenrüttler (Stat Fax™-2200) ausgestattet sind, die Platte 20 Minuten lang bei 37 C und 1000 U/min (Einstellung 5) inkubieren und rotieren lassen.**
6. Die Plattendichtung behutsam entfernen und die Vertiefungen auswaschen:
   a. **Manuelle Methode:**
      i. Den Platteninhalt resolut in einen Behälter für biogefährlichen Abfall ausleeren.
      ii. Die umgedrehte Platte auf einem sauberen Stapel Papiertücher ausklopfen.
      iii. Alle Vertiefungen mit 1fach konzentriertem Waschpuffer füllen; dabei den Pufferstrahl auf die Vertiefungsseiten richten, um Schaumbildung zu vermeiden.
      iv. Den Waschzyklus (Auskippen, Ausklopfen auf frischen Papiertüchern, Füllen) 4 bis 6 Mal wiederholen (insgesamt 5–7 Waschzyklen). Nach dem letzten Füllen die Platten auskippen und auf frischen Tüchern hart genug ausklopfen, um soviel überschüssigen Waschpuffer wie möglich zu entfernen, die Vertiefungen aber zu keiner Zeit vollständig austrocknen lassen.
   b. **Halbautomatisierte Waschmethode:**
      i. Den Platteninhalt resolut in einen Behälter für biogefährlichen Abfall ausleeren.
      ii. Die umgedrehte Platte auf einem sauberen Stapel Papiertücher ausklopfen und die leere Platte anschließend in ein Waschgerät platzieren.
      iii. Die Vertiefungen bis zum oberen Rand mit 1fach konzentriertem Waschpuffer füllen (ca. 300–350 µL/Vertiefung) und anschließend aspirieren. Der Waschgerätverteiler ist so einzustellen, dass es während des Füllens der Vertiefungen nicht zu Schaumbildung kommt und dass die Vertiefungen nach jedem Waschgang gründlich aspiriert werden.
      iv. Schritt iii noch 4 Mal wiederholen. Die Testvertiefungen sind nach dem letzten Waschgang gründlich zu aspirieren, um möglichst viel Feuchtigkeit zu entfernen. Die Vertiefungen jedoch niemals vollständig austrocknen lassen.
7. Zwei frei fallende Tropfen (ca. 100 µL) Premier-Substrat-Lösung I in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig rütteln/schwenken. Die Platte 10 Minuten lang bei 21–27 C inkubieren.
8. Zwei frei fallende Tropfen (ca. 100 µL) Premier-Stopplösung I in jede Vertiefung geben. Die Platte 30 Sekunden lang kräftig rütteln/schwenken. **Hinweis**: Bei einer positiven Reaktion zeigt sich zunächst eine blaue Färbung, die nach Zugabe der Premier-Stopplösung I ins Gelbe umschlägt.
9. Die Unterseite aller Vertiefungen mit einem fusselfreien Tuch reinigen.
10. Die Reaktionen überprüfen und notieren. Die Testergebnisse können mit Hilfe eines Spektralphotometermessgeräts erfasst werden. Eine Nullkalibrierung des EIA-Messgeräts an der Luft durchführen. Die Extinktion bei 450 nm bzw. 450/630 nm innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Premier-Stopplösung I bestimmen.
11. Erbringt die Negativkontrolle und/oder die Positivkontrolle ständig außerhalb der Vorgabewerte liegende Ergebnisse, ist zu vermuten, dass die Waschmethode bzw. das Produkt nicht einwandfrei waren. Das Problem dürfte sich durch vermehrte Waschgänge, kräftigeres Waschen, gründlicheres Abgießen oder Neukalibrieren der Waschgeräte beheben lassen. Bei fortgesetzten Schwierigkeiten bitte unter der Rufnummer 800-343-3858 (gebührenfrei innerhalb der USA) von Meridians Technical Support Services bzw. vom zuständigen Meridian-Vertriebshändler Unterstützung anfordern.

ERGEBNISINTERPRETATION

Spektralphotometrische Auswertung, eine Wellenlänge (450 nm)

Negativ: < 0,200
Positiv: ≥ 0,200
Negativkontrolle: < 0,150
Positivkontrolle: ≥ 0,600

Spektralphotometrische Auswertung, doppelte Wellenlänge (450/630 nm)

Negativ: < 0,150
Positiv: ≥ 0,150
Negativkontrolle: < 0,100
Positivkontrolle: ≥ 0,600

Beträgt einer der Werte der Negativkontrolle < 0,000, mit dem Plattenmessgerät eine erneute Leerwertmessung an der Luft durchführen und die Platte erneut ablesen.

Ein positives Ergebnis deutet auf das Vorliegen von *C.-difficile*-GDH hin. Ein negatives Ergebnis deutet auf die Abwesenheit von *C.-difficile*-GDH hin oder darauf, dass die GDH-Konzentration unterhalb des vom Assay nachweisbaren Werts liegt. Die Größenordnung oberhalb des OD-Schwellenwerts ist weder aussagekräftig für den Schweregrad oder das Ausmaß der *C.-difficile*-Infektion noch mit einem Endpunkttiter korrelierbar. Extrem stark positive Proben können innerhalb einiger Minuten nach dem Stoppen der Reaktion eine intensive Gelbfärbung aufweisen oder eine violette Ausfällung. In einem solchen Fall kann das Spektralphotometer einen „Außerhalb"-Messwert liefern. Ein solcher Messwert ist als positives Ergebnis zu erachten.

Entspricht die Frequenz schwach positiver Ergebnisse (OD zwischen 0,200 und 0,250 bei einer Wellenlänge und zwischen 0,150 und 0,200 bei zwei Wellenlängen) mehr als 5 % der getesteten Proben, kann dies auf einen unzulänglichen Waschgang hindeuten. Es empfiehlt sich, einen kräftigeren Waschgang durchzuführen oder die Waschzykluszahl auf sieben zu erhöhen (Verfahrensschritt 6).

QUALITÄTSKONTROLLE

Den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durchführen.

1. Die Kitkomponenten vor jedem Gebrauch auf offensichtliche Anzeichen von Mikrobenkontamination, Gefrieren oder Flüssigkeitsaustritt sichtprüfen. Kontaminierte oder fragwürdige Reagenzien nicht verwenden.
2. Die Premier *C.-difficile*-GDH-Leistung sollte bei jedem Testansatz unter Verwendung der Positivkontrolle und Probendiluent/Negativkontrolle überprüft werden. Angaben zu den zu erwartenden Ergebnissen für Kontrollreagenzien bietet der vorhergehende Abschnitt ERGEBNISINTERPRETATION. Die Tests sind als ungültig zu erachten, wenn eines der Kontrollreagenzien nicht die erwarteten Ergebnisse erbringt. In derartigen Fällen sind die Tests und Kontrollen erneut zu analysieren. Lassen sich auch bei wiederholten Tests mit Reagenzien, deren Verfallsdaten noch nicht abgelaufen sind, die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte unter der Rufnummer +1 800-343-3858 (gebührenfrei innerhalb der USA) von Meridians Technical Support Services bzw. vom zuständigen Meridian-Vertriebshändler Unterstützung anfordern.
3. Die Kontrollen dienen zur Überwachung der Reagenzienreaktivität. Erbringen die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse, kann dies bedeuten, dass mindestens eines der Reagenzien zum Zeitpunkt seiner Verwendung nicht mehr reaktionsfähig war, dass der Test nicht ordnungsgemäß durchgeführt wurde oder dass Reagenzien oder Proben nicht hinzugegeben wurden. **Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, zur Ermittlung der Ursache des Versagens als Erstes die Kontrolltests wiederholdn. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, bitte rufen Sie den Technischen Support von Meridian Bioscience an (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Auslieferer.**
4. Bei diesem Assay wurden keine Probenmatrixstörungen beobachtet, da die Proben vor dem Testen stark mit Probendiluent verdünnt werden. Aus diesem Grund werden die als Assay-Bestandteile mitgelieferten Positiv- und Negativkontrollen in Matrizes zubereitet, die dem Probendiluent gleichen. Falls die Zusammensetzung der Kontrollmaterialien mit der der Testproben identisch sein soll, kann der Anwender dies durch Verdünnen bekanntermaßen positiver und negativer Proben mit Probendiluent gemäß dem Abschnitt PROBENVORBEREITUNG dieser Packungsbeilage erreichen. In die Testvertiefungen 100 µL der vom Benutzer zubereiteten Kontrollen geben.

ERWARTUNGSWERTE

Die Häufigkeit der durch *C.-difficile* verursachten, mit Antibiotika assoziierten Diarrhö ist abhängig von mehreren Faktoren, darunter: Patientenpopulation, Art der Einrichtung und Epidemiologie. Berichten zufolge beträgt die Inzidenz von *C.-difficile*-Infektionen bei Patienten, die vermutlich an mit Antibiotika assoziierter Diarrhö leiden, 15–25 %.[4] Jedoch können die Positivitätsquoten einzelner Einrichtungen außerhalb dieses Bereichs liegen.

GRENZEN DES VERFAHRENS

1. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
2. Der Test ist qualitativ und es sollte keine quantitative Interpretation der Werte erfolgen.
3. Ein positives Ergebnis bestimmt keine *C.-difficile*-Infektion oder das Vorliegen von toxigenem *C. difficile*, sondern zeigt lediglich den Nachweis des Organismus an. Alle positiven Premier *C.-difficile*-GDH Stuhlproben sind zu testen, um ein Vorliegen von toxigenem *C.-difficile* zu bestätigen.
4. Eine übermäßige Testinkubation kann vermehrt zu falsch positiven Testergebnissen führen. Dagegen können kürzere Inkubationsdauern als in dieser Packungsbeilage angegeben vermehrt zu falsch negativen Testergebnissen führen. Die in dieser Packungsbeilage angegebenen Inkubationsdauern sind einzuhalten.
5. *Staphylococcus aureus* (Cowan-Stamm I) und *Clostridium sporogenes* haben sich mit Premier *C. difficile* GDH als kreuzreaktiv erwiesen.
6. Deser Test ist ausschließlich für ungeformte Stuhlproben ohne Konservierungsmittel vorgesehen. Die Leistungsmerkmale bei anderen klinischen Probentypen wurden nicht ermittelt.

SPEZIFISCHE LEISTUNGSMERKMALE

Premier *C. difficile* GDH wurde von fünf unabhängigen Testzentren im Südwesten, Südosten und Mittleren Westen der USA untersucht. Es wurden insgesamt 733 qualifizierte Patientenproben untersucht; bei allen Proben handelte es sich um Prospektivproben. Die Proben stammten von männlichen (46 %) und weiblichen (53 %) Personen. Bei 1 % der Patienten war das Geschlecht nicht bekannt. Die Altersgruppen der Patienten reichten von 22 Tagen bis 99 Jahren. Es zeigten sich keine auf Alter oder Geschlecht der Patienten zurückzuführenden Testleistungsunterschiede. In den folgenden Tabellen ist die Assay-Leistung nach klinischem Standort und Patientenalter aufgeführt.

Tabelle 1. Leistungsmerkmale nach klinischem Standort

	Positive Proben			Negative Proben		
Stand-ort	**Premier GDH/ Kultur**	**Empfind-lichkeit (in %)**	**95-%-VB**	**Premier GDH/ Kultur**	**Spezifität (in %)**	**95-%-VB**
Standorte insgesamt	108/117	92.3%	86.0 – 95.9%	590/616	95.8%	93.9 – 97.1%
Standort 1	13/16	81,3 %	57,0 – 93,4 %	84/87	96,6 %	90,3 – 98,8 %
Standort 2	28/30	93,3 %	78,7 – 98,2 %	132/140	94,3 %	89,1 – 97,1 %
Standort 3	44/46	95,7 %	85,5 – 98,8 %	147/153	96,1 %	91,7 – 98,2 %
Standort 4	15/15	100,0 %	79,6 – 100,0 %	169/175	96,6 %	92,7 – 98,4 %
Standort 5	8/10	80,0 %	49,0 – 94,3 %	58/61	95,1 %	86,5 – 98,4 %

- Abweichende Proben wurden mit einem von der US-amerikanischen Lebens- und Arzneimittelbehörde FDA zugelassenen ELISA-Test für den *C. difficile* GDH-Nachweis untersucht.
- Sechzehn der 26 falsch positiven Proben fielen beim Testen mit einem anderen von der FDA zugelassenen GDH-Assay positiv aus.
- Acht der neun falsch negativen Proben fielen beim Testen mit einem anderen von der FDA zugelassenen GDH-Assay negativ aus.

Tabelle 2. Leistungsmerkmale nach Patientenalter

	Positive Proben			Negative Proben		
Patienten-alter	**Premier GDH/ Kultur**	**Empfind-lichkeit (in %)**	**95-%-VB**	**Premier GDH/ Kultur**	**Spezifität (in %)**	**95-%-VB**
0 bis 28 Tage	0/0	N/A	N/A	1/1	100.0 %	20,7 – 100,0 %
29 Tage bis < 2 Jahre	22/24	91,7 %	74,2 – 97,7 %	56/60	93,3 %	84,1 – 97,4 %
> 2 Jahre bis < 12 Jahre	24/25	96,0 %	80,5 – 99,3 %	106/109	97,2 %	92,2 – 99,1 %
12 Jahre bis < 18 Jahre	9/11	81,8 %	52,3 – 94,9 %	59/61	96,7 %	88,8 – 99,1 %
18 Jahre bis 21 Jahre	3/4	75,0 %	30,1 – 95,4 %	22/23	95,7 %	79,0 – 99,2 %
> 21 Jahre	50/53	94,3 %	84,6 – 98,1 %	345/361	95,6 %	92,9 – 97,3 %
Keine Angaben	0/0	N/A	N/A	1/1	100,0 %	20,7 – 100,0 %

WIEDERHOLBARKEIT

Assay-Präzision, Schwankungen innerhalb eines Assays sowie Schwankungen zwischen Assays wurden anhand eines Referenzprofils aus Pools negativer Proben, die mit *C.-difficile* GDH-Antigen beimpft wurden, erstellt. Das Wiederholbarkeitsprofil bestand aus mäßig positiven (n=3), schwach positiven (n=3), hochgradig negativen (n=3) und negativen Proben (n=1). Die schwach positiven und hochgradig negativen Proben wurden nahe der Empfindlichkeitsgrenze des Assays erstellt. Jede Probe wurde in drei verschiedenen Labors an fünf aufeinander folgenden Tagen zweimal täglich untersucht. Die Wiederholbarkeit der Probenzubereitungen, die über oder unter der Analysenempfindlichkeitsgrenze liegen, betrug 100 % ohne Schwankungen innerhalb eines Assays bzw. zwischen Assays.

STUDIEN ZUR KREUZREAKTIVITÄT

Es wurden Kreuzreaktivitätsstudien mit positiven und negativen Stuhlproben durchgeführt, die mit Bakterien oder Pilzen auf Endkonzentrationen bis zu 1,2 x 10^8 KBE/mL bzw. mit Viren auf Konzentrationen von mehr als 1 x 10^5 $TCID_{50}$/mL beimpft waren. Keiner der folgenden, im Stuhl vorhandenen Organismen reagierte mit Premier *C.-difficile* GDH:

Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium butyricum, Clostridium bifermentans, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii, Clostridium tetani, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli, Escherichia coli O157:H7, *Escherichia hermannii, Escherichia fergusonii, Helicobacter pylori, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Listeria monocytogenes, Peptostreptococcus anaerobius, Plesiomonas shigelloides, Porphyromonas asaccharolytica, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Pseudomonas fluorescens, Salmonella* Gruppe B, *Salmonella* Gruppe C, *Salmonella* Gruppe D, *Salmonella* Gruppe E, *Serratia liquifaciens, Serratia marcescens, Shigella boydii, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*, Adenovirus Typ 40, Adenovirus Typ 41, Coxsackievirus Stamm B4, Echovirus Stamm 11, Rotavirus Stamm WA

Stuhlproben, die mit *Staphylococcus aureus* (Cowan-Stamm I) und *Clostridium sporogenes* beimpft wurden, zeigten Kreuzreaktionen mit dem Premier *C.-difficile* GDH Test.

TESTEMPFINDLICHKEIT

Die Testempfindlichkeit von Premier *C.-difficile* GDH-Assays ist bei Stuhlzusätzen 8 ng/mL.

ASSAY-REAKTIVITÄT

Die folgenden *C.-difficile*-Stammkulturen verschiedener Quellen ergaben beim Testen mit Premier *C. difficile* GDH positive Reaktionen bei 5,7 x 10^7 KBE/mL.

Toxigene *C.-difficile*-Stämme: 8864, 10463, 43598, 2004052, 2004111, 2004118, 2004205, 2004206, 2005070, 2005257, 2005325, 2006240, 2007431, 2007435, 2007858, 2008016, 2008029, 2008162, 2008188, 2008341, 2008351, 2009018, 2009065, 2009066, 2009099, 2009132, 2009155, 2009277, B1, BI17, BI8, BK6, CF1, G1, J7, K12, Y1

Nicht toxigene *C.-difficile*-Stämme: 11186, 234, 586, 611, 620, 2C62, 2C165, C122, UNC19904, X15076

TESTS AUF STÖRSUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen zeigten in den angegebenen gesättigten Lösungen/Verdünnungen und den aufgeführten Endkonzentrationen keine Auswirkungen auf die Testergebnisse:

Bariumsulfat (5 mg/mL), Stearinsäure/Palmitinsäure (Stuhlfette, 2,65 mg/mL bzw. 1,3 mg/mL), Hämoglobin (3,2 mg/mL), Imodium AD® (Loperamid-HCl, 6,67x10^{-3} mg/mL), Kaopectate® (Wismutsubsalicylat, 0,87 mg/mL), Metronidazol (12,5 mg/mL), Mucin (3,33 mg/mL), Mylanta® (Ammoniumhydroxid mit Magnesiumhydroxid) (4,2 mg/mL), Pepto-Bismol® (Wismutsubsalicylat, 0,87 mg/mL), Polyethylenglykol 3350 (79.05 mg/mL), Prilosec® (Omeprazol, 0,5 mg/mL), Simethicone (0,625 mg/mL), Tagamet® (Cimetidin, 0,5 mg/mL), Tums® (Calciumcarbonat, 0,5 mg/mL), Vancomycin – Hydrochlorid (2,5 mg/mL), weiße Blutkörperchen (5 %), Vollblut (25 %)

REFERENCES

1. Dawson LF, Valiente E, Wren B. *Clostridium difficile* - A continually evolving and problematic pathogen. Infect Genet Evol 2009;9:1410-1417.
2. Lyerly DM, Barroso LA, Wilkins TD. Identification of the latex-reactive protein of *Clostridium difficile* as glutamate dehydrogenase. J Clin Micro 1991;29:2639-2642.
3. Willis, DH, Kraft JA. Confirmation that the latex-reactive protein of *Clostridium difficile* is a glutamate dehydrogenase. J Clin Micro 1992;30:1363-1364.
4. Bartlett JG, Gerding D. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clin Inf Dise 2008;46:S12-18.

SN11082 **REV. 12/14**

Manufactured By

Meridian Bioscience, Inc.
USA/Corporate Office
3471 River Hills Drive
Cincinnati, Ohio 45244
Telephone: 513.271.3700
Orders/Customer Service: 800.543.1980
Technical Support Center: 800.343.3858
Information Fax: 513.272.5432
Ordering Fax: 513.271.0124

EC REP
Authorized Representative

Meridian Bioscience Europe S. r. L
Via dell'Industria, 7
20020 Villa Cortese, Milano
ITALY
Tel: +39 0331 43 36 36
Fax: +39 0331 43 36 16
Email: info@meridianbioscience.eu
WEB: www.meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe s.a./n.v.
2 Avenue du Japon - 1420 Braine l'Alleud
BELGIUM
Tel: +32 (0) 67 89 59 59
Fax: +32 (0) 67 89 59 58
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe France
34 rue de Ponthieu - 75008 Paris
FRANCE
Tel: +33 (0) 1 42 56 04 40
Fax: +33 (0) 9 70 06 62 10
Email: info.fr@meridianbioscience.eu

Meridian Bioscience Europe b.v.
Postbus 301 - 5460 AH Veghel
NETHERLANDS
Tel: +31 (0) 411 62 11 66
Fax: +31 (0) 411 62 48 41
Email: info.bnl@meridianbioscience.eu

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symbols, Guia de simbolos, Erläuterung der graphischen symbole)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL −	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized Representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
CE	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenvorbereitung, in dem sich Probenverdünngspuffer befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer	1°C	Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Einfrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabbricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD reservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
Σ	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Límite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration: 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
		DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz

For technical assistance, call Technical Support Services at 800-343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at 800-543-1980.