

## C. DIFFICILE RAPID LATEX TEST KIT

Per uso diagnostico *in Vitro*Test di agglutinazione al lattice su card per l'identificazione confermativa di colonie di *C. difficile*

### DESTINAZIONE D'USO

*C. difficile Rapid Latex Test Kit* è un test di agglutinazione al lattice per l'identificazione rapida del *Clostridium difficile* in campioni sottoposti a coltura su terreno solido selettivo, provenienti dalle feci di soggetti con sospetta colite pseudomembranosa, diarrea da antibiotici e diarrea post-operatoria. Il kit è ad uso esclusivo dei laboratori specializzati.

### PRINCIPIO DEL TEST

Le particelle di lattice sono rivestite con IgG di coniglio specifiche per gli antigeni parietali del *C. difficile*. Quando le particelle di lattice sensibilizzate vengono mescolate con la sospensione contenente le colonie di *C. difficile*, si verifica una reazione immunochimica ad alta sensibilità e specificità, in seguito alla quale le particelle di lattice finemente disperse si agglutinano rapidamente in aggregati facilmente visibili ad occhio nudo.

### MATERIALI FORNITI NEL KIT

**REAG TEST CD1:** Reagente al lattice per *C. difficile*: 2,5 mL- Particelle di lattice sensibilizzate con immunoglobuline di coniglio anti antigeni di *C. difficile*. Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo bianco gocciolatore)

**CONTROL +:** Controllo Positivo: 0,5 mL- Preparazione inattivata di antigeni di *C. difficile*, reattivo con i reagenti al lattice. Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo rosso gocciolatore)

**SAMPLE DILUENT:** Soluzione salina isotonica allo 0,9%: 5,0 mL- Contiene sodio azide allo 0,099% come conservante. (Tappo nero)

**9 CARD (SLIDE):** monouso per il test di agglutinazione, ciascuna con 6 aree test

**50 BASTONCINI:** 2x25 bastoncini per miscelazione, monouso

**PIPETTA:** N.1

### ISTRUZIONI PER L'USO

#### MATERIALI NECESSARIO MA NON FORNITO NEL KIT

Anse da batteriologia; Terreno selettivo per *C. difficile* (es. *C. difficile* selective medium Biolife REF 541308); Tubi di plastica da 1 mL, Timer

### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

#### Per la sicurezza:

- I reagenti forniti nel kit sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
- Il kit è solo per uso professionale.
- L'azide sodica, utilizzata come conservante nei reagenti del kit può reagire con le tubature in piombo o in rame formando sali metallici potenzialmente esplosivi. Smaltire sciacquando abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi.
- Prendere le necessarie precauzioni quando si maneggiano o si smaltiscono ceppi potenzialmente patogeni. Per la decontaminazione del materiale infetto utilizzare ipoclorito di sodio a una concentrazione finale del 3% per 30 minuti. Gli scarti liquidi contenenti acido devono essere neutralizzati prima di eliminarli.
- Il controllo positivo è stato inattivato durante il processo produttivo. In ogni caso deve essere maneggiato come se fosse potenzialmente infetto.

#### Procedurali:

- Utilizzare *C. difficile Rapid Latex Test Kit* in conformità alle istruzioni del kit.
- Attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente prima dell'uso.
- Non diluire i reagenti del kit.
- Non scambiare tra loro reagenti provenienti da kit di lotti diversi.
- Non congelare i reagenti del kit.
- Fare in modo che il contagocce del reagente al lattice non tocchi il controllo positivo o il campione batterico.
- Assicurarsi che la card sia pulita ed asciutta prima dell'uso.

### CONSERVAZIONE E PERIODO DI VALIDITA'

Conservare *C. difficile Rapid Latex Test Kit* a 2-8°C. Non utilizzare il kit dopo la data di scadenza stampata sull'etichetta della scatola.

### CAMPIONI

Gli isolati provenienti dai campioni fecali devono essere messi a coltura su di una piastra selettiva (per esempio *C. difficile* selective medium REF 541308) in ambiente anaerobio a 37°C per 48 ore. Le colonie con la morfologia simile al *C. difficile* saranno quindi prelevate per il test. Per rimuovere gli altri organismi fecali non sporigeni prima dell'inserimento in piastra, si può ricorrere al lavaggio alcolico.

### PROCEDURA

#### Controllo di Qualità:

I seguenti test con il Controllo Positivo e il Reagente al lattice devono essere eseguiti ogni volta che si utilizza il kit per verificarne la funzionalità.

Dispensare una goccia da 50 µL di **CONTROL +** in un'area dello slide. Aggiungere una goccia di **REAG TEST CD1** e, dopo aver miscelato delicatamente, osservare il risultato. Nell'arco di 2 minuti dovrebbe verificarsi la reazione di agglutinazione. Se la reazione non si verifica, eliminare i reagenti.

In un'altra area dello slide dispensare una goccia di **REAG TEST CD1** e una goccia di soluzione salina. Mescolare e osservare la reazione, che non deve dare luogo ad agglutinazione. La presenza di una reazione di agglutinazione indica che almeno uno dei reagenti è contaminato. In tal caso, eliminare i reagenti.

#### Procedura del test:

1. Lasciare condizionare a temperatura ambiente i reagenti. Agitare delicatamente il lattice per omogenare la sospensione.
2. Dispensare 50µL di **SAMPLE DILUENT** in un'area dello slide.
3. Utilizzando un'ansa da batteriologia, prelevare una colonia con morfologia simile a *C. difficile* dalla piastra di terreno selettivo. Se la crescita dovesse essere scarsa, prelevare le colonie da una superficie vasta della piastra. Emulsionare la colonia nella goccia di **SAMPLE DILUENT** per produrre una sospensione densa e omogenea.
4. Osservare la sospensione. La presenza di agglutinazione o di aggregati indica un fenomeno di autoagglutinazione. Se la sospensione resta omogenea, procedere alla fase successiva. Se si riscontra autoagglutinazione, l'organismo non può essere testato mediante *C. difficile Rapid Latex Test Kit*. In tal caso sarà necessario ricorrere a metodi di saggio alternativi.
5. Aggiungere 1 goccia (50µL) di **REAG TEST CD1** alla sospensione contenente la colonia, precedentemente ottenuta sul vetrino.  
**Evitare che il contagocce entri in contatto con la sospensione contenente i microrganismi.**



- Miscelare la sospensione batterica con il reagente al lattice usando un bastoncino per miscelazione per 30 secondi. Continuare a mescolare facendo oscillare il vetrino.
- Controllare se si verifica agglutinazione nell'arco di 2 minuti, a partire dal momento in cui si è iniziato a mescolare il reagente con il campione.
- Leggere il risultato (vedi INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI di seguito)
- Dopo la lettura, eliminare i bastoncini e le card usati in un disinfettante adatto.

## INTERPRETAZIONE

L'agglutinazione entro 2 minuti è indice di risultato positivo e di presenza di *C. difficile* nel campione. L'intensità della reazione può variare e possono essere utilizzate le seguenti linee guida per l'interpretazione.

- + reazione: fine, ma ben distinguibile la granularità rispetto al fondo lattiginoso.
- ++ reazione: granularità grossolana rispetto al fondo lattiginoso.
- +++ reazione: agglomerate molto visibili lungo il contorno della sospensione rispetto al fondo lattiginoso.

## LIMITAZIONI D'USO

- I risultati devono essere interpretati nel contesto di tutte le informazioni disponibili, cliniche e di laboratorio. L'isolamento di *C. difficile* non costituisce una diagnosi di colite pseudomembranosa o di diarrea da antibiotici.
- L'identificazione di *C. difficile* mediante *C. difficile Rapid Latex Test Kit* deve essere effettuata su colture incubate in terreni selettivi, poiché ciò aumenta il tasso di isolamento.
- Le colture in sospensione che producono un fenomeno di autoagglutinazione non possono essere testate mediante *C. difficile Rapid Latex Test Kit*. In tal caso sarà necessario utilizzare dei metodi alternativi.

## CARATTERISTICHE DEL TEST

*C. difficile Rapid Latex Test Kit* è stato valutato come test di conferma per colture sia da un laboratorio indipendente di microbiologia esterno, sia mediante procedure interne. In totale sono stati analizzati mediante coltura in piastre di agar selettivo 137 isolati batterici, e le colonie sono state testate con *C. difficile Rapid Latex Test Kit* e altri test disponibili in commercio.

		<i>C. difficile Rapid Latex Test Kit</i>		Totale
		+vo	-vo	
Metodi di riferimento	+vo	85*	0	85
	-vo	0	52**	52
Totale		85	52	137

Sensibilità: 85/85 = 100%  
 Specificità: 52/52 = 100%  
 Concordanza: 137/137 = 100%













\*18 degli 85 isolati di questo gruppo erano cross-reagenti in entrambi i test. Tuttavia, 16 di essi non crescevano su terreno selettivo per *C. difficile*, o le colonie non corrispondevano morfologicamente al *C. difficile*. Gli altri due isolati (entrambi di *C. glycolicum*) crescevano leggermente, ma non manifestavano la fluorescenza caratteristica della maggior parte dei ceppi di *C. difficile*.

\*\* 2 di questi isolati venivano classificati come *C. difficile* (sierogruppi A9 e A10). Uno di essi (sierogruppo A10) presentava una colonia di morfologia leggermente irregolare. I restanti 50 isolati comprendevano un'ampia varietà di specie batteriche, comprese 5 *Clostridium* spp. La maggior parte di questi isolati non cresceva su agar selettivo per il *C. difficile*, oppure presentava una colonia con morfologia atipica.

Complessivamente i risultati ottenuti con *C. difficile Rapid Latex Test Kit* coincidevano quasi completamente con quelli rilevati con il test disponibile in commercio. Sebbene una serie di microrganismi tenda potenzialmente a provocare delle reazioni di falso positivo in entrambi i test, tali organismi non crescono in terreni di coltura selettivi per il *C. difficile*, oppure la morfologia delle loro colonie non corrisponde a quella del *C. difficile*.

## RIPRODUCIBILITA'

La **riproducibilità interna al lotto** è stata verificata testando lo stesso lotto in tre diverse occasioni e utilizzando un operatore diverso ad ogni occasione. La sensibilità è stata testata mediante le diluizioni seriali di riferimento e gli antigeni di controllo del kit, mentre la specificità è stata confermata mediante una batteria di microrganismi per il controllo di qualità. Non sono state rilevate differenze significative tra i risultati ottenuti dai tre operatori. La **riproducibilità tra lotti diversi** è stata verificata testando la sensibilità e la specificità di tre lotti di prodotto mediante gli antigeni di riferimento e di controllo del kit e la batteria di microrganismi per il controllo di qualità. Non sono state rilevate differenze significative tra i tre lotti di prodotto, né in termini di sensibilità, né in termini di specificità.

 IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	 Limiti di temperatura	 LOT	Codicedel lotto (XXX)	 Fabbricante	 Mantenerne asciutto	 Non sterile
	Consultare le istruzioni per l'uso	 Utilizzare entro (anno/mese)	 REF	Numero di catalogo	 Non riutilizzare	 Fragile, maneggiare con cura	 Tenere lontano dal calore

**CONFEZIONE (50 tests)**  
**REAG TEST CD1**  
**CONTROL +**  
**SAMPLE DILUENT**  
**CARD (SLIDE)**  
**BASTONCINI**  
**PIPETTA**  
**ISTRUZIONI PER L'USO**

**COD. 271085**  
 2,5 mL (Tappo bianco gocciolatore)  
 0,5 mL (Tappo rosso gocciolatore)  
 5,0 mL (Tappo nero)  
 9 card con 6 aree test  
 2 x 25 bastoncini  
 1  
 1

Codice Ramo CND W0105011702 