



Solana[®]
C. difficile ASSAY

ZUR VERWENDUNG MIT DEM SOLANA-INSTRUMENT
Für den direkten, qualitativen Nachweis des *Clostridioides (Clostridium) difficile* Toxin A Gens (*tcdA*) in wässrigen Stuhlproben von Patienten mit vermuteter *Clostridioides difficile* Infektion (CDI).

Zur Verwendung in der in vitro-Diagnostik.

Ein Glossar der Symbole ist zu finden unter quidel.com/glossary.

INHALT

VERWENDUNGSZWECK 2

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG 2

TESTPRINZIP 2

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN 3

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN 3

LAGERUNG UND HANDHABUNG VON KIT-REAGENZIEEN 4

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND HANDHABUNG 4

TESTVERFAHREN 4

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE 5

QUALITÄTSKONTROLLE 5

EINSCHRÄNKUNGEN 6

ERWARTETE WERTE 6

KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT 7

 Leistung im Vergleich zu breiig angereicherter toxischen Bakterienkultur 7

 Leistung im Vergleich zu einem von der FDA zugelassenen molekularbiologischen Messinstrument 7

ANALYTISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT 8

 Nachweisgrenze 8

 Analytische Reaktivität (Inklusivität) 8

 Reproduzierbarkeitsstudie 8

 Analytische Spezifität – Kreuzreaktivität und mikrobielle Interferenz 9

 Analytische Spezifität – Störende Substanzen 10

 Übertragung – Kreuzkontamination 11

KUNDENSERVICE UND TECHNISCHER SUPPORT 12

GEISTIGES EIGENTUM	12
LITERATUR	12
GLOSSAR.....	14



VERWENDUNGSZWECK

Der Solana *C. difficile* Assay ist ein *in-vitro*-Diagnostik-Test für den direkten, qualitativen Nachweis des *Clostridioides (Clostridium) difficile* Toxin A Gens (*tcdA*) in ungeformten Stuhlproben von Patienten mit vermuteter *Clostridioides (Clostridium) difficile* Infektion (CDI). Der Solana *C. difficile* Assay ist als Unterstützung für die Diagnostik von CDI gedacht. Der Assay verwendet Helicase-abhängige Amplifizierung (HDA) für die Amplifizierung eines stark konservierten Fragments der Toxin A Gensequenz. Der Solana *C. difficile* Assay ist nur zum Gebrauch mit dem Solana-Instrument gedacht.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG

Clostridioides (Clostridium) difficile ist das am häufigsten identifizierte enterale Pathogen bei Patienten mit Antibiotika-assoziiertem Durchfall und Colitis. In den Vereinigten Staaten führt *C. difficile* zu ungefähr einer halben Million Infektionen bei Patienten.¹ Diese Infektionen sind ursächlich für deutliche Zunahmen in der Spitalaufenthaltsdauer und Gesundheitskosten von mehr als 1,1 Milliarden US-Dollar.² Die Inzidenz und der Schweregrad von *C. difficile* assoziierten Erkrankungen nahm übereinstimmend mit Kurzzeit-Spitalaufenthalten zu.^{3,4}

Die Mehrzahl der *C. difficile* Infektionen wird nosokomial erworben und die meisten Patienten bleiben nach der Übertragung asymptomatisch. Man vermutet, dass die Exposition mit Antibiotika die Intestinalflora unterbricht und die opportunistische Kolonisation durch *C. difficile* ermöglicht. Die Virulenz von *C. difficile* wird wahrscheinlich durch die Produktion von zwei Toxinen (Toxin A und Toxin B) vermittelt. Allerdings ist die Präsenz der beiden Proteine Toxin A und Toxin B nicht Bedingung für die Pathogenität.⁶ Beide Toxin-Gene (*tcdA* und *tcdB*) liegen innerhalb eines 19,6 Kb großen Pathogenitäts-Lokus (PaLoc), der in den Genomen aller bekannten toxischen *C. difficile* Stämme vorkommt.⁷ Der Solana *C. difficile* Assay zielt auf eine stark konservierte Region des PaLoc, der in allen bekannten A+B+ und A-B+-Toxintypen von *C. difficile* intakt ist.

TESTPRINZIP

Der Solana *C. difficile* Assay kombiniert einfache Probenverarbeitung und Helicase-abhängige Amplifizierung (HDA), die in Solana für den Nachweis von toxischen *Clostridioides (Clostridium) difficile* direkt aus CDI-verdächtigen Durchfallproben durchgeführt werden.

Eine kleine Menge der Probe wird mit einem Tupfer in ein Lysis-Röhrchen übertragen. Das Lysis-Röhrchen wird dann für 5 Minuten einer Hitzebehandlung bei 95°C unterzogen. Die hitzebehandelte Probe wird einem Verdünnungsröhrchen zugesetzt und dann in ein Reagenzröhrchen übertragen. Das Reagenzröhrchen enthält lyophilisierte HDA-Reagenzien, dNTPs, Primer und Sonden. Nach Rehydrierung mit der verdünnten Probe wird das Reagenzröhrchen zur Amplifikation und zum Nachweis der Zielsequenz in Solana eingesetzt. In Solana wird die Zielsequenz durch spezifische Primer amplifiziert und durch eine spezifische im Reagenzröhrchen enthaltene Fluoreszenzsonde nachgewiesen. Im Lysis-Röhrchen ist eine kompetitive Prozesskontrolle (PRC) enthalten, um die Verarbeitung der Probe, hemmende Substanzen in klinischen Proben, Versagen von Reagenzien oder Geräteversagen zu überwachen. Die PRC wird durch zielspezifische Primer amplifiziert und durch eine PRC-spezifische Fluoreszenzsonde nachgewiesen.

Die Ziel- und die PRC-Sonden werden mit einem Quencher an einem Ende und einer Fluorophore am anderen Ende gekennzeichnet. Nach Bindung an das Ziel- oder PRC-Amplicon nimmt das Fluoreszenzsignal durch die physische Trennung der Fluorophore vom Quencher zu. Das Solana-Instrument misst und interpretiert das Fluoreszenzsignal mit Hilfe von systemintegrierten methodenspezifischen Algorithmen. Das Solana-Instrument meldet diese Testergebnisse dem Benutzer auf seiner Anzeige und kann sie über einen Drucker ausdrucken.

BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

Cat. #M307

48 Tests pro Kit

Komponente	Menge	Aufbewahrung
Frischer beflockter Tupfer	48 Röhrchen/Kit	2 °C bis 30 °C
Lysis-Puffer	48 Röhrchen/Kit 1,0 ml	2 °C bis 8 °C
Verdünnungspuffer	48 Röhrchen/Kit 1,8 ml	2 °C bis 8 °C
Reagenzröhrchen	48 Röhrchen/Kit	2 °C bis 8 °C

BENÖTIGTE, JEDOCH NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

- Externe Kontrollen für toxigenisches *C. difficile* (z. B. laboreigene interne Kontrollmaterialien aus isolierten und charakterisierten Proben, die zuvor zur Interpretation eingereicht wurden oder das Quidel molekulare *C. difficile* Kontrollkit, Cat. #M108; diese Kontrollen können zur externen Verarbeitung und Amplifizierung dienen und sind unabhängig vom PRC).
- Sterile DNase-freie filter-blockierte oder positive Einweg-Pipettenspitzen
- Mikro-Pipette
- Stoppuhr oder Timer
- Vortex-Mischer
- Schere (zum Trennen der Reagenzröhrchen)
- Solana Arbeitsablauf-Tablett und Transfergestell
- Wärmeblock mit Temperatur bis 95 °C ± 2 °C
- Thermometer
- Solana-Gerät

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Weitere Informationen zu Installation und Betrieb des Instruments siehe das Solana-Benutzerhandbuch.
- Nur das in der Packungsbeilage enthaltene Protokoll verwenden. Abweichungen vom Protokoll können zu fehlerhaften Resultaten führen.
- Alle Reagenzien sind nur für *in-vitro*-Diagnostik.
- Alle Proben/Untersuchungsproben als potenziell infektiös behandeln. Bei der Handhabung der Proben dieses Kits und seinen Inhalten allgemeine Sicherheitsmaßnahmen anwenden.
- Alle Röhrchen müssen vor dem Vortexen fest verschlossen werden.
- Korrekte Entnahme, Lagerung und korrekter Transport der Probe sind eine wesentliche Voraussetzung für korrekte Ergebnisse.
- Assay-Reagenzien gemäß den Angaben auf den jeweiligen Etiketten lagern.
- Reagenzien dürfen nicht zwischen verschiedenen Chargen ausgetauscht werden.
- Reagenzien aus verschiedenen Röhrchen nie poolen, auch wenn sie aus derselben Charge stammen.
- Reagenzien nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwenden.
- Keine Kit-Komponenten verwenden, die zerbrochen oder beschädigt erscheinen.
- Keine Verschlusskappen zwischen den Reagenzien austauschen, da das zur Kontamination und zur Verfälschung der Testergebnisse führen kann.
- Röhrchen nur öffnen, wenn Teilproben zum Röhrchen hinzugefügt oder aus den Röhrchen entnommen werden. Die Röhrchen andernfalls immer verschlossen halten, um eine Kontamination zu vermeiden.
- Die Reagenzröhrchen nach Amplifizierung zur Verhinderung einer Kontamination der Umgebung mit Amplicons nicht öffnen.
- Beim Entnehmen von Aliquoten aus den Röhrchen eine mikrobielle und Desoxy-Ribonuklease-Kontamination (DNase-Kontamination) der Reagenzien vermeiden. Die Verwendung von sterilen DNase-freien filter-blockierten oder positiven Einweg-Mikropipettenspitzen wird empfohlen.
- Für jede Probe oder Reagenz eine neue Pipettenspitze verwenden.
- Durchführen des Assays außerhalb des empfohlenen Zeitrahmens kann zu ungültigen Ergebnisse führen. Nicht innerhalb des empfohlenen Zeitrahmens abgeschlossene Assays müssen wiederholt werden.
- Zur Vermeidung von übermäßiger Hitze muss das Einsetzen und Entnehmen von Röhrchen in und aus dem Heizblock und das Hantieren mit den erhitzten Röhrchen vorsichtig erfolgen.
- Gemäß Richtlinien oder Anforderungen von lokalen, staatlichen, Provinz- und/oder Bundesvorschriften oder Zulassungsbehörden müssen möglicherweise zusätzliche Kontrollen getestet werden.
- Nicht mit dem Mund pipettieren.

- In Bereichen, in denen Proben oder Kit-Reagenzien gehandhabt werden, darf nicht geraucht, getrunken oder gegessen werden.
- Pipettieren Sie sorgfältig ausschließlich mit kalibrierter Ausrüstung, um genaue Ergebnisse zu erhalten. Die Verwendung ungenauer Volumina kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Alle Oberflächen mit einer 10%igen Bleichmittellösung gefolgt von hochreinem Wasser gründlich reinigen und desinfizieren.
- Für alle Verfahren Mikropipetten mit einer Aerosol-Barriere oder positiven Einweg-Mikropipettenspitzen verwenden.
- Tests müssen in einer Umgebung mit ausreichender Belüftung durchgeführt werden.
- Behälter und ungebrauchte Inhalte gemäß den staatlichen, bundesstaatlichen und örtlichen behördlichen Anforderungen entsorgen.
- Beim Umgang mit den Inhalten dieses Kits geeignete Schutzkleidung, Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Nach Gebrauch Hände gründlich waschen.
- Bitte lesen Sie das Sicherheitsdatenblatt (SDB) auf quidel.com, um weitere Informationen zu Gefahrensymbolen, Sicherheit, Handhabung und Entsorgung der Komponenten in diesem Kit zu erhalten.

LAGERUNG UND HANDHABUNG VON KIT-REAGENZIEN

Das Assay-Kit bis zum auf der äußeren Kit-Schachtel aufgedruckten Verfallsdatum bei 2 °C bis 8 °C lagern.

PROBENENTNAHME, LAGERUNG UND HANDHABUNG

Probentyp: wässrige auf CDI verdächtige Stuhlproben.

Einen sterilen Behälter verwenden:

1. Den flüssigen oder weichen Stuhl in den sterilen Behälter geben; darauf achten, dass kein Toilettenpapier, Urin, Wasser oder Seife mitgegeben werden.
2. Den Behälter gemäß den Standardarbeitsanweisungen des Krankenhauses beschriften.
3. Die gekennzeichneten Proben in das Labor transportieren.

Lagerung: Die Proben müssen in fest verschlossenen, auslaufsicheren Plastikbehältern transportiert werden. Wenn die Proben innerhalb von 3 bis 4 Stunden nach der Entnahme verarbeitet werden können, ist ein Transport bei Raumtemperatur ausreichend. Proben, die verspätet im Labor ankommen, müssen sofort gekühlt und bei entweder 2°C bis 8°C oder –20°C für bis zu 7 Tagen aufbewahrt werden. Die Proben auf Eis versenden, wenn sie über eine längere Strecke transportiert werden.

TESTVERFAHREN

1. Das Solana-Instrument durch Drücken des Einschaltknopfs einschalten und warten, bis der Selbsttest abgeschlossen ist.
Hinweis: Die Abdeckung während des Selbsttests nicht öffnen.
2. Den Heizblock 25 Minuten vor dem Heizlysenschritt auf 95 °C ± 2 °C aufheizen.
3. Die benötigte Anzahl von Lysis-Röhrchen in ein Gestell stellen. Die Lysis-Röhrchen auf der Kappe und/oder Seite des Röhrchens markieren.
Hinweis: Für jede zu testende Probe oder Kontrolle wird ein (1) Lysis-Röhrchen benötigt.
Hinweis: In einem einzelnen Solana-Instrument können maximal 12 Tests durchgeführt werden.
4. Die Stuhlprobe gründlich mischen.
5. Stuhlprobe unter Verwendung der enthaltenen Tupfer aufnehmen. Tupfer in die flüssige oder wässrige Stuhlprobe tauchen.
Hinweis: Oversampling vermeiden. Die Tupferspitze darf nur leicht mit Stuhl bedeckt sein. Für jede Probe einen neuen Tupfer verwenden.
6. Tupfer in ein mit Patientenidentifikation versehenes Lysis-Röhrchen geben und die Probe durch rasches Drehen der Tupferspitze im Lysis-Röhrchen für 10 Sekunden freisetzen. Tupfer entfernen und gemäß lokalen Laborvorschriften entsorgen.
Hinweis: Ohne Verzögerung mit Schritt 7 fortfahren, sobald die Probe dem Lysis-Röhrchen zugesetzt wurde.
7. Die Lysis-Röhrchen während 5 Minuten bei 95 °C ± 2 °C erhitzen und die Lysis-Röhrchen dann für 5 Sekunden vortexen.
Hinweis: Das 5-minütige Lysis-Verfahren beginnen, sobald der Block 95 °C ± 2 °C erreicht. Der Timer muss unterbrochen werden, falls die Temperatur während dieses 5-minütigen Zeitraums außerhalb dieses Temperaturbereichs liegt, und darf erst wieder gestartet werden, wenn der Heizblock wieder 95 °C ± 2 °C erreicht.
Hinweis: Proben sind im Lysis-Puffer nach der Erhitzung bei 2 °C bis 8 °C für bis zu 96 Stunden und bei 25 °C ± 2 °C für bis zu 24 Stunden stabil.
8. Die benötigte Anzahl von Verdünnungsröhrchen in ein Gestell setzen. Die Röhrchen mit Verdünnungspuffer auf dem Deckel und/oder an der Seite des Röhrchens markieren.
Hinweis: Für jede zu testende Probe oder Kontrolle wird ein (1) Röhrchen mit Verdünnungspuffer benötigt.

9. Aus jedem Proben-Röhrchen 50 µl in ein identifiziertes Verdünnungsröhrchen übetragen. Kappe verschließen und die Lösung durch Vortexen der Röhrchen für 5 Sekunden gut mischen.
Hinweis: Für jede Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
Hinweis: Proben sind im Verdünnungspuffer bei 2 °C bis 8 °C für bis zu 96 Stunden und bei 25 °C ± 2 °C für bis zu 25 Stunden stabil.
10. Die benötigte Anzahl von Reagenzröhrchen aus dem Schutzbeutel entnehmen, überflüssige Luft entfernen und den Beutel wieder verschließen. Die Reagenzröhrchen auf dem Deckel markieren.
11. 50 µl der verdünnten Probe in das gekennzeichnete Reagenzröhrchen übertragen, die Lösung durch dreimaliges Auf- und Ab-Pipettieren mischen und die Kappe schließen. Die Lösung muss klar und frei von Feststoffen sein.
Hinweis: Für jede verdünnte Probe eine neue Pipettenspitze verwenden.
Hinweis: Unverzüglich mit dem nächsten Schritt fortfahren. Rekonstituierte Reagenzlösung nicht für länger als 15 Minuten absetzen lassen.
12. Jedes Reagenzröhrchen unter Verwendung des Solana Übertragungsracks (um die Reagenzröhrchen auf Augenhöhe zu halten) visuell prüfen, um die Pellet-Rehydrierung sicherzustellen.
13. Die Abdeckung öffnen und die Reagenzröhrchen mit Hilfe des Transfergestells im Solana-Instrument einsetzen. Die Abdeckung schließen.
Hinweis: Sicherstellen, dass alle Röhrchen in engem Kontakt zum Wärmeblock stehen.
14. Benutzer-ID und Kennwort eingeben und ↵ (ENTER) drücken.
15. „NEUER TEST“ auswählen. Falls das Solana-Instrument eine andere Bildschirmseite anzeigt, zum Home-Bildschirm gehen.
16. Die zu verwendenden Röhrchenpositionen auswählen.
17. Den Assay-Barcode scannen oder „Cdiff Assay“ aus dem Test-Auswahlmenü auswählen, Chargen-ID/Verfalldatum manuell eingeben und „▶“ drücken.
18. Aus dem Auswahlmenü den Probentyp (Patient oder QK) wählen und Proben-IDs eingeben (optional; siehe 2. Hinweis im nächsten Schritt).
19. „Start“ drücken, um den Solana Cdiff Assay zu initialisieren. Solana zeigt den Fortschritt und den Countdown bis zum Abschluss des Assays an; die Testergebnisse erscheinen nach ungefähr 30 Minuten auf dem Bildschirm.
Hinweis: Das Reagenzröhrchen **NICHT** öffnen, sobald das Röhrchen verschlossen wurde und die Amplifikation gestartet wurde, um eine Kontamination des Labors zu vermeiden.
Hinweis: Die Proben-ID kann, während der Test läuft, eingegeben oder durch Drücken des Bleistift-Symbols geändert werden.
20. Nach Abschluss des Durchlaufs den Pfeil drücken, um zur Ergebnisanzeige zu gelangen. Die Ergebnisse können durch Auswahl der Druckschaltfläche gedruckt werden.
Hinweis: Diese Seite nicht verlassen, bevor die Ergebnisse ausgedruckt wurden. Wird der Bildschirm verlassen, kann er nicht erneut aufgerufen werden. Falls dies eintritt, können die Ergebnisse individuell aufgerufen werden, indem zum Home-Bildschirm gewechselt und dann „Resultate prüfen“ ausgewählt wird.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Proben	Assay-Ergebnis	Interpretation
Patientenprobe	POSITIV	Toxigene <i>C. difficile</i> DNA nachgewiesen
	NEGATIV	Keine toxigene <i>C. difficile</i> DNA/PRC nachgewiesen
	UNGÜLTIG	Keine toxigene <i>C. difficile</i> DNA und keine PRC nachgewiesen; bei ungültigen Testergebnissen dieselbe verarbeitete Probe zuerst neu testen. Wenn der Test nach erneutem Testen mit verarbeiteten Probe ungültig ist, ein anderes Aliquot derselben Probe verarbeiten oder eine neue Probe erheben und erneut testen.

QUALITÄTSKONTROLLE

Der Solana *C. difficile* Assay beinhaltet verschiedene Kontrollen, um die Leistung des Assays zu überwachen.

- Die Prozesskontrolle wird verwendet, um die Probenverarbeitung zu überwachen, HDA-hemmende Proben zu entdecken sowie die Integrität der Assay-Reagenzien und der Kassettenerkennung zu bestätigen. Die Prozesskontrolle ist im Röhrchen mit Lysis-Puffer enthalten.
- Die externe Positivkontrolle kann als Patientenprobe behandelt werden. Den enthaltenen Tupfer in die externe positive Kontrolle geben und sicherstellen, dass die Flüssigkeit die Spitze bedeckt. Das Röhrchen mit Verdünnungspuffer als Positivkontrolle identifizieren und mit der Verarbeitung wie oben im Assay-Verfahren beschrieben fortfahren. Die externe Positivkontrolle ist zur Überwachung relevanter Fehler von Reagenzien und Instrument gedacht.

- Die externe Negativkontrolle kann wie eine Patientenprobe behandelt werden. Den enthaltenen Tupfer in die externe negative Kontrolle tauchen und sicherstellen, dass die Flüssigkeit die Spitze bedeckt. Das Röhrchen mit Verdünnungspuffer als negative Kontrolle identifizieren und mit der Verarbeitung wie oben im Assay-Verfahren beschrieben fortfahren. Die externe Negativkontrolle wird zum Nachweis einer Kontamination (oder Übertragung) von Reagenz oder Umgebung durch *C. difficile* DNA oder Amplicon verwendet.

Es wird empfohlen, die Reaktivität jeder neuen Charge und jeder neuen Lieferung des Solana *C. difficile* Assays bei Erhalt und vor Gebrauch zu überprüfen. Externe Kontrolltests sollten in Übereinstimmung mit den entsprechenden Bundes-, Staats- und lokalen Vorschriften durchgeführt werden. Der Solana *C. difficile* Assay sollte nicht für Patiententests eingesetzt werden, wenn die externe Kontrolle keine korrekten Ergebnisse liefert.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Ein negatives *C. Difficile* Ergebnis sollte nicht als alleinige Basis für Diagnose, Behandlung oder Entscheidungen im Patientenmanagement eingesetzt werden. Die Ergebnisse sollten zusammen mit anderen klinischen und Laborbefunden interpretiert werden.
- Auch wenn keine Vorbereitung des Reagenz benötigt wird, ist das Pipettieren die wichtigste Labortechnik; eine gute Labortechnik ist für die korrekte Leistungsfähigkeit dieses Assays von wesentlicher Bedeutung. Durch die hohe analytische Sensitivität dieses Tests muss in besonderem Maße auf die Reinheit aller Reagenzien geachtet werden, besonders in Fällen, in denen multiple Aliquots aus einem Röhrchen entnommen werden.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Bindungsregionen der Sonde können den Nachweis von neuen oder unbekanntem *C. Difficile* Varianten beeinträchtigen und mit dem Solana *C. Difficile* Assay zu falsch negativen Ergebnissen führen.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht zwingend das Vorhandensein von lebensfähigen Organismen an.
- Dieser Test weist *C. Difficile* Genotypen nach, ohne zwischen hypervirulenten Stämmen von anderen toxischen *C. Difficile* Genotypen zu differenzieren.
- Dieser Test gibt keine Hinweise auf die Empfindlichkeit der nachgewiesenen *C. Difficile* Stämme auf verschiedene antimikrobielle Stoffe.
- Negative Testergebnisse können durch falsches Entnehmen, Hantieren oder Lagern der Proben, Vorhandensein von Inhibitoren, technische Fehler, Mischen von Proben bedingt sein oder weil die Zahl der Organismen in der Probe unter der analytischen Sensitivität des Tests liegt. Um fehlerhafte Resultate zu vermeiden, müssen die Anweisungen in dieser Packungsbeilage sorgfältig eingehalten werden. Dieser Assay sollte nur von für dieses Verfahren ausgebildeten Personen benutzt werden.
- Dieser Test ist zur Verwendung mit flüssigen oder weichen menschlichen Stuhlproben gedacht. Die Leistungsmerkmale anderer Probentypen wurden nicht bestimmt.

ERWARTETE WERTE

Die erwarteten Werte des Solana *C. Difficile* Assays wurden im Rahmen einer prospektiven zwischen November 2016 und Februar 2017 durchgeführten Studie bestimmt. Achthundertvierundfünfzig (854) für diese Studie verwendete Proben wurden bei Patienten, bei denen eine *Clostridioides (Clostridium) difficile* Infektion vermutet wurde, in drei unterschiedlichen geografischen Zentren in den USA erhoben. Pro Patient wurde eine Einzelprobe erhoben. Die Proben wurden an den Prüfzentren mit dem Solana *C. Difficile* Assay im Solana-Instrument verarbeitet.

Patientenalter und Geschlecht aller Zentren sind nachstehend dargestellt.

Kombinierte Studie – Alters- und Geschlechtsverteilung				
Alter/Geschlecht	weiblich	männlich	Gesamt	Gesamtprozent positiv mit dem Solana <i>C. Difficile</i> Assay in rohen Proben
≤ 2 Jahre	3	3	6	16,7 % (1/6)
3 bis 11 Jahre	4	6	10	20,0 % (2/10)
12 bis 17 Jahre	4	10	14	7,1 % (1/14)
18 bis 21 Jahre	11	14	25	24,0 % (6/25)
22 bis 59 Jahre	206	132	338	14,2 % (48/337*)
≥ 60 Jahre	268	193	461	12,0 % (55/460*)
Gesamt	496	358	854	13,3 % (113/852**)

* Eine (1) Probe war ungültig

** Zwei (2) Proben waren ungültig

KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

Die Leistungsmerkmale des Solana C. Difficile Assays wurden im Rahmen einer prospektiven Studie zwischen November 2016 und Februar 2017 durchgeführten Studie bestimmt. Achthundertvierundfünfzig (854) für diese Studie verwendete Proben wurden bei Patienten, bei denen eine *Clostridioides difficile* Infektion vermutet wurde, in drei unterschiedlichen geografischen Zentren in den USA erhoben. Diese Proben wurden an den Prüfzentren am Tag der Entnahme oder nach Lagerung bis zu drei Tagen bei 2 °C bis 8 °C im Original mit dem Solana C. Difficile Assay geprüft. Die Solana-Ergebnisse wurden mit einer breiig angereicherten toxischen Bakterienkultur (Sensitivität/Spezifität) und einem von FDA zugelassenen molekularbiologischen Messinstrument (positiv/negative % Übereinstimmung) verglichen.

Leistung im Vergleich zu breiig angereicherter toxischer Bakterienkultur

Achthundertvierundfünfzig (854) originale Proben wurden sowohl mit dem Solana C. Difficile Assay als auch der angereicherten toxischen Kultur verglichen. Für die Methode der toxischen Kultur wurden Proben in Hackfleisch-Glukose (CMG)-Brei inokuliert und nach 48 Stunden auf CCHA-HB-Platten kultiviert. Verdächtige Kolonien wurden weiter charakterisiert und als *C. Difficile* identifizierte Kolonien wurden in CMG-Brei für nachfolgende Cytotoxin-Tests kultiviert. Zwei (2) Proben (0,2 %) waren im Solana C. Difficile Assay unter Befolgung der provisorischen Anweisungen für Solana C. Difficile Assay ungültig. Beide Proben blieben auch nach mehrmaligem Testen ungültig. Diese Proben wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die nachfolgenden Daten stammten von den verbleibenden achthundert zweiundfünfzig (852) Proben.

Kombinierte Zentren – rohe Proben								
Solana C. difficile Assay	angereicherte toxische Kultur				95 % KI			
		POS	NEG	Gesamt				
	POS	107	6*	113	Empfindlichkeit	93,0 %	86,9 %	96,4 %
	NEG	8**	731	739	Spezifität	99,2 %	98,2 %	99,6 %
	Gesamt	115	737	852				

* Drei (3) der sechs (6) Proben waren für *C. Difficile* Toxin Gen-DNA bei Verwendung eines alternativen molekularbiologischen Messinstruments positiv, drei (3) waren negativ.

** Sechs (6) der acht (8) Proben waren bei Verwendung eines alternativen molekularbiologischen Messinstruments positiv für *C. Difficile* Gen Toxin und zwei (2) waren negativ.

Leistung im Vergleich zu einem von der FDA zugelassenen molekularbiologischen Messinstrument

Achthundertvierundfünfzig (854) Proben wurden sowohl mit dem Solana C. Difficile Assay als auch dem von der FDA zugelassenen molekularbiologischen Messinstrument geprüft. Zwei (2) Proben (0,2 %) waren im Solana C. Difficile Assay unter Befolgung der provisorischen Anweisungen für Solana C. Difficile Assay ungültig. Beide Proben blieben auch nach mehrmaligem Testen ungültig. Diese Proben wurden von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die nachfolgenden Daten stammten von den verbleibenden achthundert zweiundfünfzig (852) Proben.

Kombinierte Zentren – rohe Proben								
Solana C. difficile Assay	von der FDA zugelassenes molekularbiologisches Messinstrument				95 % KI			
		POS	NEG	Gesamt				
	POS	97	16*	113	positive prozentuale Übereinstimmung	97,0 %	91,6 %	99,0 %
	NEG	3**	736	739	negative prozentuale Übereinstimmung	97,9 %	96,6 %	98,7 %
	Gesamt	100	752	852				

* Zwölf (12) der sechzehn (16) Proben waren für *C. Difficile* Toxin Gen-DNA bei Verwendung eines alternativen molekularbiologischen Messinstruments positiv, vier (4) waren negativ.

** Zwei (2) der drei (3) Proben waren bei Verwendung eines alternativen molekularbiologischen Messinstruments positiv für *C. Difficile* Gen Toxin und eine (1) war negativ.

ANALYTISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze des Solana C. Difficile Assays wurde mittels serieller Verdünnung von zwei (2) toxischen, in negativer Matrix angereicherten C. Difficile Stämmen, ATCC® BAA-1805 und CCUG 20309, sowie durch quantifizierte C. Difficile Genom-DNA, BAA-1382DQ™ angereichert in Lysis-Puffer, bestimmt. Die analytische Sensitivität ist als die niedrigste Konzentration definiert, bei der 95 % aller Wiederholungen positiv geprüft werden.

Stuhlmatrix	C. difficile Stämme	Analytische Sensitivität des Stamms
Nicht konservierter Stuhl	ATCC BAA-1805	9,13E+03 CFU/ml
	CCUG 20309	4,90E+03CFU/ml
Nicht verfügbar	Genomische DNA: ATCC® BAA-1382DQ™	15 Kopien/Assay

Analytische Reaktivität (Inklusivität)

Die Reaktivität des Solana C. difficile Assays wurde gegen zusätzliche dreiundzwanzig Stämme von *Clostridioides (Clostridium) difficile* mit multiplen Toxintypen beurteilt. Der Test wurde an drei Replikaten jedes Stammes angereichert in negativer Stuhlmatrix nahe der Nachweisgrenze für den Assay (1,83E+04 CFU/ml, 2X LOD für ATCC BAA-1805) durchgeführt. Alle dreiundzwanzig zusätzlichen Stämme in dieser Studie wurden in allen Replikaten durch das Solana C. difficile Assay nachgewiesen.

Stamm	Toxintyp
ATCC BAA-1805*	III
CCUG 20309*	X
ATCC BAA-1870	IIIb
CCUG 37770	IV
ATCC BAA-1875	V
ATCC 43598	VIII
ATCC 37774	XXIII
CCUG 9004	unbekannt
ATCC BAA-1874	0
ATCC 43600	0
ATCC BAA-1871	0
ATCC BAA-1803	IIIc
ATCC BAA-1872	0
ATCC 700792	0
ATCC 43599	0
CCUG 60276	unbekannt
CCUG 60275	unbekannt
CCUG 37778	unbekannt
CCUG 37777	unbekannt
CCUG 37776	unbekannt
CCUG 37773	unbekannt
ATCC 17857	0
ATCC 43594	0
ATCC 43596	0
ATCC 43255	0

* C. difficile Stämme, ATCC BAA-1805 und CCUG 20309 waren in der LOD-Studie enthalten.

Reproduzierbarkeitsstudie

Zur Bestätigung der Reproduzierbarkeit des Solana C. difficile Assays wurde ein verblindetes und randomisiertes Studienpanel mit für *Clostridioides difficile* negativen und positiven in negativer Stuhlmatrix arrangierten Proben an drei (3) Teststandorten (zwei (2) klinischen Standorten) geprüft. Jede Standort prüfte ein Reproduzierbarkeitspanel und Assay-Kontrollen während 5 Tagen in dreifacher Ausführung. Die Tests wurden durch zwei Operatoren an jedem Standort durchgeführt. Jeder Operator prüfte das Panel einmal täglich. Insgesamt wurden 540 Proben geprüft (inklusive der Kontrollen). Das Solana C. difficile Assay ergab in dieser Studie reproduzierbare Ergebnisse.

Zentren	Standort 1		Standort 2		Standort 3		Prozent insgesamt Übereinstimmung		95 % Konfidenzintervall
	Anz. erwartetes Ergebnis/ Anz. getestet	% Übereinstimmung	Anz. erwartetes Ergebnis/ Anz. getestet	% Übereinstimmung	Anz. erwartetes Ergebnis/ Anz. getestet	% Übereinstimmung			
<i>C. difficile</i> Stark negativ (4,8 X 10 ² CFU/ml)	12/30	40 %	19/30	63,3 %	12/30	40 %	43/90	47,8 %	37,8 % – 58,0 %
<i>C. difficile</i> Schwach positiv (1,7 X 10 ³ CFU/ml)	30/30	100 %	30/30	100 %	29/30	96,7 %	89/90	98,9 %	94 % – 99,8 %
<i>C. difficile</i> Moderat positiv (3,4 X 10 ³ CFU/ml)	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 % – 100 %
Negativ	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 % – 100 %
<i>C. difficile</i> Positivkontrolle	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 % – 100 %
Assay Negativkontrolle	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 % – 100 %

Analytische Spezifität – Kreuzreaktivität und mikrobielle Interferenz

Die analytische Spezifität des Solana *C. difficile* Assays wurde durch Testen eines Panels mit achtundsechzig (68) bakteriellen, viralen und Hefe-Mikroorganismen sowie humaner DNA, die zu den normalen enteralen Pathogenen gehört, Flora oder Nukleinsäure, die normalerweise im Darm vorkommt, beurteilt. Mikroorganismen oder Nukleinsäure wurden mit gepoolter negativer Matrix gemischt und direkt oder mit vorhandener 1,83E+04 CFU/ml *C. difficile* auf Kreuzreaktivität und mikrobielle Interferenz geprüft.

Die nachstehende Tabelle führt die in diesen Studien verwendeten bakteriellen, viralen und Hefe-Mikroorganismen auf. Es konnte keine Kreuzreaktivität oder Interferenz mit einem Panelinhalt und dem Solana *C. difficile* Assay nachgewiesen werden.

Organismen-ID	Identifizierung
<i>Abiotrophia defectiva</i>	ATCC 49176
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966
<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i>	ATCC 15554
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 13472
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> sub sp. <i>jejuni</i>	ATCC 33292
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090
<i>Clostridioides (Clostridium) bifermentans</i>	ATCC 638
<i>Clostridioides (Clostridium) botulinum</i>	
<i>Clostridioides (Clostridium) butyricum</i>	CCRI-11128
<i>Clostridioides (Clostridium) haemolyticum</i>	ATCC 19398
<i>Clostridioides (Clostridium) novyi</i>	ATCC 19402
<i>Clostridioides (Clostridium) orbiscindens</i>	ATCC 49531
<i>Clostridioides (Clostridium) perfringens</i>	ATCC 13124
<i>Clostridioides (Clostridium) scindens</i>	ATCC 35704
<i>Clostridioides (Clostridium) septicum</i>	ATCC 12464
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	ATCC 9714
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	Z077
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 6329
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 9284
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 33098
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 36938
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 43123

Organismen-ID	Identifizierung
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 47545
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 59819
<i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i> (nicht toxinogen)	ATCC 43593
<i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i> (nicht toxinogen)	ATCC 43601
<i>Clostridioides (Clostridium) sporogenes</i>	ATCC 15579
<i>Edwardsiella tarda</i>	ATCC 15947
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	ATCC 51299
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 23511
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 700927
<i>Helicobacter pylori</i>	ATCC 43504
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 33497
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4356
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC BAA-389
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 14029
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	ATCC 25260
<i>Prevotella melaninogenica</i>	ATCC 25845
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Providencia alcalifaciens</i>	ATCC 9886
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 35554
<i>Salmonella choleraesuis</i> (Typhimurium)	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	ATCC 13314
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC 7001
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 27592
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 13880
<i>Shigella boydii</i>	ATCC 9207
<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 11835
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 29930
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 12973
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
Adenovirus	
Rotavirus	
Norovirus	
Enterovirus	
Echovirus 6	
Coxsackie-Virus	
Cytomegalovirus	
Human-DNA	

Analytische Spezifität – Störende Substanzen

Die Leistung des Solana C. difficile Assays wurde mit potenziell interferierenden Substanzen geprüft, die in Stuhlproben vorhanden sein könnten. Die potenziell interferierenden Substanzen wurden mit zwei *C. difficile* Stämmen (CCUG Nr. 20309 oder ATCC BAA Nr. 1805) bei einer Konzentration von 1,83E + 04 CFU/ml geprüft. Es konnte keine Interferenz durch die geprüften Substanzen nachgewiesen werden.

Name der Substanz	Aktive Wirkstoffe	Testkonzentration
Nystatin	Nystatin	1 % (w/v)
Cortizon 10	Hydrocortison	1 % (w/v)

Name der Substanz	Aktive Wirkstoffe	Testkonzentration
Glycerin-Zäpfchen	Glycerin	1 % (w/v)
Desitin	Zinkoxid	1 % (w/v)
Anusol Plus	Pramoxin-Hydrochlorid und Zinksulfat-Monohydrat	1 % (w/v)
Preparation H	Phenylephrin	1 % (w/v)
Nystatin	Nystatin	1 % (w/v)
Cortizon 10	Hydrocortison	1 % (w/v)
Glycerin-Zäpfchen	Glycerin	1 % (w/v)
Desitin	Zinkoxid	1 % (w/v)
Anusol Plus	Pramoxin-Hydrochlorid und Zinksulfat-Monohydrat	1 % (w/v)
Preparation H	Phenylephrin	1 % (w/v)
Tums	Kalziumcarbonat	10 % (w/v)
Antazid-Ausgleich, maximale Stärke	Aluminiumhydroxid, Magnesiumhydroxid	10 % (w/v)
Mesalazin rektales Suspensionsklistier	Mesalazin	10 % (w/v)
Mineralöl-Klistier	Mineralöl	10 % (w/v)
Gynol II vaginales Kontrazeptivum	Nonoxynol-9	1 % (w/v)
Imodium AD	Loperamide HCl	10 % (w/v)
Pepto Bismol	Bismut subsalicylat	10 % (w/v)
Ex-Lax	Sennosides	1 % (w/v)
Metronidazol	Metronidazol	12,5 mg/ml
Vancomycin	Vancomycin	12,5 mg/ml
Polysporin	Bacitracin und Polymyxin B	1 % (w/v)
Naproxen Natrium	Naproxen Natrium	12,5 mg/ml
Tucks Reinigungstücher	Hamamelis	10 % (v/v)
Benzalkonium-Chlorid Toilettentücher	Benzalkonium-Chlorid	10 % (v/v)
Ethanol	Ethanol	10 % (v/v)
Mucus	Immunoglobuline, Lysozyme, Polymere usw.	3,5 %
Vollblut	Glukose, Hormone, Enzyme, Ionen, Eisen usw.	10 %
Palmitinsäure	Palmitinsäure	12,5 mg/ml
Sterische Säure	Sterische Säure	12,5 mg/ml
Triglycerid-Mischung (C2 – C10)	Triglyceride	10 %

Keine der zweiunddreißig (32) potenziell interferierenden Substanzen, die in Stuhlproben vorhanden sein können, zeigte eine Kreuzreaktion oder interferierte mit dem Solana C. difficile Assay.

Übertragung – Kreuzkontamination

Zur Demonstration der nicht stattfindenden Übertragung und Kreuzkontamination bei Anwendung des Solana C. difficile Assays durch die vorgesehenen Anwender gemäß den Anweisungen der Packungsbeilage wurde eine Studie durchgeführt.

Zwei (2) Proben wurden vorbereitet: Eine *C. difficile* positive Probe und eine *C. difficile* negative Probe. Die positive Probe wurde durch Hinzufügen von Zellen eines *C. difficile* Stamms (CCUG 20309) mit einem bekannten Titer zu negativer Stuhlmatrix mit einer Konzentration von $4,9 \times 10^6$ CFU/ml (ungefähr 1000X LOD) vorbereitet. Die negative Stuhlmatrix dient als *C. difficile* negative Probe. In jedem Experiment wurden die positiven mit den negativen Proben alterniert und mit dem Solana C. difficile Assay geprüft, um das Risiko der Kreuzkontamination zu beurteilen. Insgesamt prüften zwei (2) Operatoren insgesamt 50 positive und 50 negative Proben in insgesamt 11 Durchläufen.

Alle positiven *C. difficile* Proben wurden positiv und alle negativen Proben wurden negativ getestet. Es konnte keine Übertragung/Kreuzkontamination mit dem Solana C. difficile Assay nachgewiesen werden, wenn dieser in Übereinstimmung mit der Packungsbeilage angewendet wurde.

KUNDENSERVICE UND TECHNISCHER SUPPORT

Bei Fragen zur Verwendung dieses Produkts wenden Sie sich bitte an den technischen Kundendienst von Quidel unter 1 800 874 1517 (in den USA) oder an technicalsupport@quidel.com. Außerhalb der USA erhalten Sie weitere Informationen von Ihrem Vertriebspartner oder unter einer der nachfolgend aufgeführten Nummern direkt von Quidel. Weitere Unterstützungsmöglichkeiten finden Sie unter quidel.com.

Land/Region	Telefon	E-Mail-Adresse
Europa, Naher Osten und Afrika	+353 (91) 412 474 (Haupt-Nr.) 0 1800 200441 (gebührenfrei)	emeatechnicalsupport@quidel.com
Österreich	+43 316 231239	
Frankreich	0 (805) 371674	
Deutschland	+49 (0) 7154 1593912	
Niederlande	0 800 0224198	
Schweiz	0 800 554864	
Großbritannien	0 800 3688248	
Italien	+39 (800) 620 549	
Nordamerika, Asien-Pazifik, Lateinamerika	858.552.1100	technicalsupport@quidel.com
Kanada	437.266.1704 (Haupt-Nr.) 888.415.8764 (gebührenfrei)	technicalsupport@quidel.com
China	0400 920 9366 oder +86 021 3217 8300	chinatechnicalservice@quidel.com

GEISTIGES EIGENTUM

Die Farbstoffverbindungen in diesem Produkt werden unter Lizenz von BioSearch Technologies, Inc. verkauft und sind durch erteilte oder angemeldete US-amerikanische und weltweite Patente geschützt.

LITERATUR

- <https://www.cdc.gov/media/releases/2015/p0225-clostridium-difficile.html>
- Kyne, L., M.B. Hamel, R. Polavaram, and C.P. Kelly, *Health Care Costs and Mortality Associated with Nosocomial Diarrhea Due to Clostridium difficile*. Clin Infect Dis, 2002. 34(3): p.346-353.
- Archibald, L.K., S.N. Banerjee, and W.R. Jarvis, *Secular trends in hospital-acquired Clostridium difficile disease in the United States, 1987-2001*. J Infect Dis, 2004. 189(9): p. 1585-9.
- McDonald, L.C., M. Owings, and D.B. Jernigan, *Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003*. Emerg Infect Dis, 2006. 12(3): p. 409-15.
- Voth, D.E. and J.D. Ballard, *Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease*. Clin Microbiol Rev, 2005. 18(2): p. 247-63.
- Drudy, D., S. Fanning, and L. Kyne, *Toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile*. Int J Infect Dis, 2007. 11(1): p. 5-10.
- Cohen, S.H., Y.J. Tang, and J. Silva, Jr., *Analysis of the pathogenicity locus in Clostridium difficile strains*. J Infect Dis, 2000. 181(2): p. 659-63.



M307 – Solana C. difficile Assay – 48-Test Kit





MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Deutschland



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701, USA
quidel.com

PIM307005DE00 (07/20)

GLOSSAR

REF

Katalog-Nr.



CE-Konformitätskennzeichnung

EC REP

Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft

LOT

Chargencode



Verwenden bis



Hersteller



Temperaturbegrenzung



Verwendungszweck

Rx ONLY

Prescription Verwendung nur



Consult E-Beschriftung
Gebrauchsanweisung beachten

IVD

Zur *In-vitro*-Diagnose



Inhalt ist ausreichend für 48 Bestimmungen

CONT

Inhalt/Enthält
