

Szybki test do wykrywania antygenów GDH oraz toksyny A i toksyny B Clostridium difficile w próbkach kału ludzkiego. Test przeznaczony tylko do użytku profesjonalnego do diagnostyki in vitro.

PRZEZNACZENIE TESTU

Clostridium difficile GDH + Toxin A + Toxin B Rapid Test Cassette jest szybkim immunochromatograficznym testem kasetkowym używanym do jakościowej oceny występowania antygenów GDH, toksyny A i toksyny B Clostridium difficile w próbkach kału ludzkiego.

WPROWADZENIE

Clostridium difficile (C.difficile) jest Gram dodatnią bakterią beztlenową funkcjonującą jako patogen oportunistyczny: zaczyna namnażać się w jelicie, w sytuacji kiedy normalna flora zostaje zmieniana przez leczenie antybiotykami. Szczepki C.difficile wytwarzające toksyny mogą powodować infekcje od łagodnej biegunki do rzekomononiarowego zapalenia okrężnicy (PMC pseudomembranosus colitis), potencjalnie prowadzącego do śmierci. Stan chorobowy może być powodowany przez dwie toksyny produkowane przez szczepki C.difficile: toksyna A (enterotoksyna uszkadzająca tkanki) i toksyna B (cytotoksyna). Niektóre szczepki produkują obie toksyny A i B, inne wytwarzają tylko toksynę B. Wykazano, że zastosowanie dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) jako markera antygenowego proliferacji C.difficile jest skuteczną metodą, ponieważ wszystkie szczepki wytwarzają dużą ilość tego enzymu.

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Clostridium difficile Toxin A+ Toxin B Combo Rapid Test Cassette umożliwia wykrywanie trzech antygenów w próbkach kału. GDH, Toksyna A i toksyna B są identyfikowane na trzech niezależnych paskach testowych wchodzących w skład jednego testu, co pozwala na jednoczesne wykrycie trzech specyficznych dla C.difficile antygenów.

GDH - Specyficzność testu gwarantuje zastosowanie koloidalnych cząsteczek złota połączonych w postaci koniugatu z przeciwciałami, skierowanymi przeciwko specyficznym antygenom GDH C. difficile, które znajdują się na membranie nitrocelulozowej.

Po naniesieniu próbki rozcieńczonego kału w buforze ekstrakcyjnym (dostarczony wraz z testem) na okienko, mieszanina koniugatów zaczyna migrować z próbki. W rejonie linii testowej dochodzi do kontaktu badanej próbki i koniugatu ze specyficznymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom GDH C. difficile. Jeśli badany materiał zawiera antygeny C. difficile, kompleks antygen C. difficile-koniugat pozostaje związany z przeciwciałami zaadsorbowanymi na membranie, tworząc czerwoną linię testową. Pozostały roztwór przesuwa się w kierunku odczytnika kontrolnego i wiążąc się z koniugatem, tworzy czerwoną linię kontrolną (C), która potwierdza prawidłowe działanie testu, oraz to że odpowiednia objętość próbki została naniesiona na membranę, pozwalając na jej przesiąkanie.

Toksyna A i B – Specyficzność testu gwarantuje zastosowanie na każdej z niezależnych membran nitrocelulozowych, koloidalnych cząsteczek złota połączonych w postaci koniugatu z przeciwciałami, skierowanymi przeciwko specyficznym antygenom odpowiednio toksyny A i toksyny B C. difficile.

Po naniesieniu próbki kału rozcieńczonego w buforze ekstrakcyjnym (dostarczony wraz z testem) na każde z dwóch okienek testowych, mieszanina koniugatów zaczyna migrować z próbkami kału dzięki zjawiskom kapilarnym. W rejonie linii testowych dochodzi do kontaktu badanych próbek i koniugatów ze specyficznymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom toksyny A i toksyny B C. difficile. Jeśli badany materiał zawiera antygeny toksyny A lub toksyny B C. difficile, kompleks antygen C. difficile-koniugat pozostaje związany z przeciwciałami zaadsorbowanymi na membranie, tworząc czerwoną linię testową. Pozostały roztwór przesuwa się w kierunku odczytnika kontrolnego i wiążąc się z koniugatem, tworzy czerwoną linię kontrolną (C), która potwierdza prawidłowe działanie testu, jak również to że odpowiednia objętość próbki została naniesiona na membranę, pozwalając na jej przesiąkanie.

SRODKI OSTROŻNOŚCI

- Test przeznaczony tylko do diagnostyki in vitro. Nie używać po terminie ważności
- Test kasetkowy powinien pozostać w szczelnym opakowaniu do czasu analizy
- Nie należy jeść, pić, palić w pomieszczeniu gdzie dokonuje się analiz
- Należy zachować szczególną ostrożność. Odpady należy usuwać zgodnie z narodowymi lub lokalnymi wytycznymi, dotyczącymi usuwania odpadów. Chociaż pozytywna kontrola w teście została inaktywowana, należy traktować ją jako materiał potencjalnie zakaźny i wyrzucić po uprzednim zneutralizowaniu.
- Należy stosować ubranie ochronne: rękawiczki, fartuch, okulary. Rękawiczki oraz zużyte kasety należy wyrzucić zgodnie z GLP (Good Laboratory Practice) oraz zgodnie z lokalnymi regulacjami.
- Wilgotność i temperatura oddziałujące od optymalnych warunków przechowywania mogą wpłynąć na wynik testu

PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ

Przechowywać w oryginalnych, szczególnie zamkniętych opakowaniach zawierających pochłaniacz wilgoci, w temperaturze pokojowej (lub w lodówce (2-30°C), do końca upływu terminu ważności, umieszczonego na opakowaniu. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Nie używać po terminie ważności. Nie otwierać opakowania jednostkowego zawierającego test, dopóki nie osiągnie temperatury pokojowej, aby uniknąć kondensacji pary wodnej na membranie

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Odpowiednią ilość kału (1-2 ml lub 1-2 g) pobrać do czystego, suchego, wodoszczelnego pojemnika, który nie zawiera pozostałości detergentów, konserwantów lub pożywek transportowych. Należy upewnić się, że próbka nie ma kontaktu z roztworem zawierającym formaldehyd lub jego pochodne. Do momentu wykonania analizy, która powinna być wykonana tak szybko jak to możliwe, próbki mogą być przechowywane przez 3 dni w temperaturze 2-8°C przy dłuższym przechowywaniu, muszą być zamrożone w temperaturze -20°C. Probka rozcieńczona w buforze może być przechowywana przez 1 tydzień w temperaturze 2-8°C lub w temperaturze -20°C przy dłuższym przechowywaniu.

MATERIAŁY

Materiały dostarczone

Test kasetkowy (10 sztuk), Instrukcja dla testu; Probówka reakcyjna z buforem ekstrakcyjnym

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Pojemniki na próbki kału, Minutnik, Zakraplacz; Wirówka i pipeta do pobierania 80 µl jeśli wymagane

WYKONANIE ANALIZY

Przed rozpoczęciem analizy należy doprowadzić test, próbkę oraz bufor do temperatury pokojowej (15-30°C). Próbkę należy opisać nazwiskiem pacjenta lub jego numerem identyfikacyjnym.

1. Próbkę kału należy pobrać i przenieść do czystego, suchego, wodoszczelnego pojemnika, który nie zawiera pozostałości detergentów, konserwantów lub pożywek transportowych. Należy upewnić się, że próbka nie ma kontaktu z roztworem zawierającym formaldehyd lub jego pochodne. Do momentu wykonania analizy, która powinna być wykonana tak szybko jak to możliwe, próbki mogą być przechowywane przez 3 dni w temperaturze 2-8°C przy dłuższym przechowywaniu, muszą być zamrożone w temperaturze -20°C. Probka rozcieńczona w buforze może być przechowywana przez 1 tydzień w temperaturze 2-8°C lub w temperaturze -20°C przy dłuższym przechowywaniu.
2. Zamknąć szczelnie, w celu dobrego wzmieszania próbki z buforem wstrząsając próbkę testową. Odczekać 2 minuty.
3. Wyjąć test z opakowania i użyć tak szybko jak to możliwe.
4. Trzymając w pozycji pionowej próbkę testową, należy odwrócić z niej zatyczkę. Następnie przechylić próbkę w lewo i nakropić 3 krople (ok. 120 µl) badanej próbki do każdego z trzech okienek testowych (S). Włączyć minutnik (10 min). Należy unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w okienkach.
5. **Odczytać wynik po 10 minutach od momentu naniesienia próbki** do okienka testu. Nie odczytywać wyniku po upływie 20 min.

Uwaga: Jeśli mieszanina nie przesuwa się (obecność cząsteczek stałych), należy rozcieńczyć próbkę odwirować. Następnie zebrać 120 µl supernatantu i wykonać test ponownie.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

POZYTYWNY: Dwie oddzielne kolorowe linie testowe. Jedna linia w rejonie kontrolnym (C), druga w rejonie testowym (T1).

***Uwaga1:** Intensywność barwy linii będzie zależała od stężenia antygenów GDH, toksyny A i toksyny B obecnych w próbce. Dlatego każdy odcień w rejonie T powinien być uważany za wynik pozytywny.

NEGATYWNY: Jedna kolorowa linia w rejonie kontrolnym (C), brak linii w rejonie testowym (T1/T2).

WYNIK NIEWAŻNY: zupełny brak linii lub brak linii kontrolnej wskazuje na błąd wykonania testu, nieprawidłowe działanie odczytników lub pogorszenie jakości paska testowego. W takim przypadku należy powtórzyć badanie z użyciem nowego testu.

Uwaga2: Podczas wysychania membrany, w rejonie testowym może pojawić się bardzo słaby cień, którego nie należy odczytywać jako wynik pozytywny.

KONTROLA JAKOŚCI

Test zawiera pasek kontrolny (C), potwierdzający wystarczającą ilość próbki, umożliwiającą przesiąkanie membrany oraz prawidłową technikę wykonania. Zgodnie z GLP zaleca się używanie pozytywnych i negatywnych kontroli (nieodłączone do testu) w celu potwierdzenia właściwego działania testu.

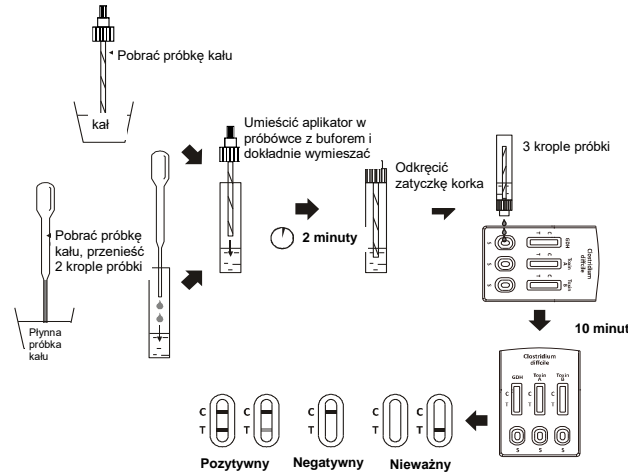
OGRANICZENIA TESTU

- Clostridium difficile GDH Toxin A+Toxin B Rapid Test Cassette wskazuje tylko na obecność, antygenów w próbce i nie służy do określania ich ilości.
- Test nie powinien stanowić jedynego kryterium diagnostycznego, uzyskane przy użyciu testu wyniki, powinny być porównane z wszystkimi dostępnymi klinicznymi i laboratoryjnymi danymi.
- Wynik pozytywny nie wyklucza obecności innych patogenów.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Dla próbek kału pochodzących od osób zdrowych, test powinien dawać wyniki negatywne dla każdego z badanych antygenów. Wyniki otrzymane przy użyciu testu Clostridium difficile Toxin A+Toxin B Rapid Test Cassette zostały porównane z wynikami otrzymanymi dla innego wiodącego na rynku szybkiego testu

immunochromatograficznego, dając korelację 95,3% dla Clostridium difficile GDH i 96,0% dla Clostridium difficile Tox A i 94,7% dla ToxB.



CHARAKTERYSTYKA TESTU

Wykrywalność (limit detekcji)

Limit detekcji dla Clostridium difficile Toxin A + Toxin B Combo Rapid Test Cassette określono na poziomie 1 ng/ml dla GDH, 2 ng/ml dla toksyny A i 7 ng/ml dla toksyny B.

Czułość/Specyficzność GDH

Metoda	Wynik	Inne testy		ogółem
		Pozytywny	Negatywny	
Clostridium difficile GDH Toxin A and Toxin B Rapid Test Cassette	Pozytywny	116	8	124
	Negatywny	6	170	176
ogółem		122	178	300

Względna Czułość: 95,1% (95%CI: 89,6%-98,2%)

Względna Specyficzność: 95,5% (95%CI: 91,3%-98,0%)

Względna Dokładność: 95,3% (95%CI: 92,3%-97,4%)

*Przedział ufności

Czułość/Specyficzność Toksyna A

Metoda	Wynik	Inne testy		ogółem
		Pozytywny	Negatywny	
Clostridium difficile GDH Toxin A and Toxin B Rapid Test Cassette	Pozytywny	115	5	120
	Negatywny	7	173	180
ogółem		122	178	300

Względna Czułość: 94,3% (95%CI: 88,5%-97,7%)

Względna Specyficzność: 97,2% (95%CI: 93,6%-99,1%)

Względna Dokładność: 96,0% (95%CI: 93,1%-99,9%)

*Przedział ufności

Czułość/Specyficzność Toksyna B

Metoda	Wynik	Inne testy		ogółem
		Pozytywny	Negatywny	
Clostridium difficile GDH Toxin A and Toxin B Rapid Test Cassette	Pozytywny	112	6	118
	Negatywny	10	172	182
ogółem		122	178	300

Względna Czułość: 91,8% (95%CI: 85,4%-96,0%)

Względna Specyficzność: 96,6% (95%CI: 92,8%-98,8%)

Względna Dokładność: 94,7% (95%CI: 91,5%-96,9%)

*Przedział ufności

Powtarzalność wewnątrz serii

Aby określić dokładność wewnątrz serii, te same pozytywne próbki i roztwór buforowy poddano 15-krotnej analizie na testach pochodzących z tej samej serii produkcyjnej, przeprowadzonej w tych samych warunkach doświadczalnych. Wszystkie zaobserwowane wyniki potwierdzono zgodnie z oczekiwaniami.

Powtarzalność między seriami

Aby określić dokładność między seriami, niektóre próbki (dodatnie i z dodatkiem buforu) poddano analizie używając testów pochodzących z trzech różnych serii produkcyjnych. Wszystkie wyniki potwierdzono zgodnie z oczekiwaniami.

Interferencje

Sprawdzano możliwe reakcje krzyżowe dla Clostridium difficile GDH Toxin A+Toxin B Rapid Test Cassette i uznano je za ujemne dla poniższych patogenów:

Campylobacter coli	Salmonella enteritidis	Shigella dysenteriae
Campylobacter jejuni	Salmonella paratyphi	Shigella flexneri
E. coli O157:H7	Salmonella typhi	Shigella sonnei
H. pylori	Salmonella typhimurium	Staphylococcus aureus
Listeria monocytogenes	Shigella boydii	Yersinia enterocolitica

Substance powodujące interferencje

Poniżej wymieniono substancje, które dodane do pozytywnych i negatywnych próbek, mają potencjalny wpływ na wynik testu.

Kwas askorbinowy: 20mg/dl	Kwas szczawowy: 60mg/dl	Bilirubina: 100mg/dl
Kwas moczowy: 60mg/dl	Aspiryna: 20mg/dl	Mocznik: 2000mg/dl
Glukoza: 2000mg/dl	Kofeina: 40mg/dl	Albumina: 2000mg/dl

BIBLIOGRAFIA

1. RamadassBalamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008
2. E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl6, p. 2-18, Oct. 2006
3. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T.Wilkins: Clostridium difficile: its disease and toxins. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
4. Ramsey L. et al: Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications, Annals of Surgery 235 (3), p. 363-372, Mar. 2002
5. Wren MW., Kinson R., Sivapalan M., Shemko M., Shetty NR.: Detection of Clostridium difficile infection: a suggested laboratory diagnostic algorithm, British Journal of Biomedical Sciences, 66(4) p. 175-179, 2009.
6. Willis DH. And JA Kraft: Confirmation that the latex-reactive protein of Clostridium difficile is a Glutamate Dehydrogenase. Journal of clinical microbiology, 30, p. 1363-1364, May 1992

	Uwaga, należy zapoznać się z dołączoną instrukcją		Liczba testów w zestawie		Autoryzowany Przedstawiciel na terenie Wspólnoty Europejskiej
	Produkt medyczny do diagnostyki in vitro		Termin przydatności do użycia		Wyrób jednorazowego użytku
	Przechowywać w temperaturze 2-30°C		Kod partii		Numer katalogowy
	Nie używać jeśli opakowanie jest uszkodzone		Wytwórca		Do wyrobu dołączona instrukcja

ACRO BIOTECH, Inc.
9500 Seventh Street,
Unit M, Rancho Cucamonga,
CA 91730, U.S.A.



IMPORTER: GRASO Biotech
Krağ 4a 83-200 Starogard Gd.
Owidz, Leśna 1, 83-211 Jabłowo
Dział Obsługi Klienta: 058 562 30 21
zamowienia@graso.com.pl; www.grasobiotech.pl



EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Münster
Germany