



CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B

Rychlý test pro kvalitativní detekci antigenů *Clostridium difficile*: glutamátdehydrogenázy (GDH), toxinu A a toxinu B ze vzorku lidské stolice.

Návod k použití

Souprava obsahuje 20 jednotlivě balených testů
(Katalogové č. 41220)

Pro profesionální In Vitro diagnostické účely.
Skladujte při 2-30°C. **Nezmrazujte.**

Dovází: GALI spol. s r.o.

Ke Stadionu 179, Semily 513 01
Tel. 481 689 050
Fax. 481 689 051
E-mail: info@gali.cz

Vyrábí: Savyon® Diagnostics Ltd.



3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAEL
Tel. +972.8.8562920
Fax. +972.8.8523176

E-mail: support@savondiagnosics.com

Použití

Souprava CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B je rychlý imunochromatografický test simultánně detekující glutamátdehydrogenázu (GDH), toxin A a toxin B ze vzorku lidské stolice. Souprava slouží jako pomůcka v diagnostice infekce *Clostridium difficile*.

Úvod

Gram pozitivní anaerobní bakterie *Clostridium difficile* je agens způsobující průjmy související s antibiotickou léčbou nebo pseudomembranózní kolitidou (1). Tento patogen může způsobovat vážné až smrtelné průjmy, pokud není včas diagnostikován. Hlavním rizikem pro rozvoj infekce je antibiotická léčba, a pokud je střevní mikroflóra antibiotickou léčbou narušena, infekce se může rozvinout. K infekci dochází typicky fekálně-orálním přenosem (2). Virulentními faktory *C. difficile* jsou toxin A a toxin B (3,4). Tyto toxiny vykazují vysokou sekvenční a funkční homologii. Toxin A je popisován jako enterotoxin narušující tkáň, který atrahuje neutrofilů a monocytů, toxin B je potenciální cytotoxin degradující epitelální buňky (5).

Nejvíce virulentní kmeny produkují oba toxiny, ačkoliv kmeny tox A negativní/ tox B pozitivní také způsobují onemocnění (6,7). *C. difficile* GDH je enzym produkovaný většinou toxigenních i netoxigenních kmenů. GDH je markerem infekce *C. difficile* (8,9).

Princip testu

Souprava CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B je rychlý imunochromatografický test simultánně detekující glutamátdehydrogenázu (GDH), toxin A a toxin B ve vzorku lidské stolice.

Membrána testu A je potažena monoklonálními protilátkami proti antigenu GDH, membrána testu B je potažena monoklonálními protilátkami proti toxinu A a membrána testu C je potažena monoklonálními protilátkami toxinu B.

Během testování reaguje vzorek s červeně značenými protilátkami anti-GDH, anti-toxin A a anti-toxin B, navázanými na částicích. Směs vzlíná kapilárními silami po membráně a reaguje s protilátkami za vzniku barevného proužku v testovací zóně. Přítomnost červených proužků v jednotlivých testovacích zónách vypovídá o pozitivním výsledku příslušného antigenu, jeho nepřítomnost je důkazem negativního výsledku. Procedurální kontrola, zeleně zabarvený proužek ve všech kontrolních zónách se musí objevit vždy, a je důkazem, že bylo použito vhodné množství vzorku, a test je funkční.

Součásti soupravy

CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B kazetky
Návod k použití
Zkumavky pro přípravu vzorku s diluentem

Požadovaný, ale nedodávaný materiál

Odběrové zkumavky
Rukavice
Stopy

Bezpečnostní opatření

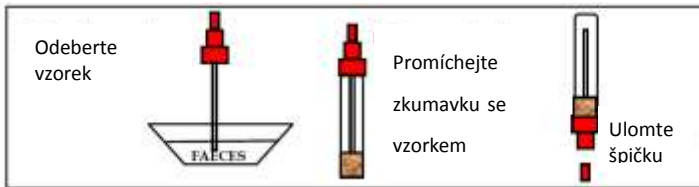
- Pro profesionální in vitro diagnostické účely.
- Nepoužívejte po uplynutí doby expirace.
- Test by měl zůstat v testovací fólii až do jeho použití.
- Test nepoužívejte, pokud je fólie poničená.
- Se všemi vzorky zacházejte jako s potenciálně infekčními.
- Postupujte dle správné laboratorní praxe a dodržujte standardní postupy vhodné pro likvidaci vzorků. Při testování a manipulaci se vzorkem se nesmí jíst, pít ani kouřit.
- Během testování a manipulace se vzorkem noste ochranné oděvy: laboratorní plášť, brýle, rukavice.
- Vlhkost a teplota mohou nepříznivě ovlivnit výsledek.
- Test zpracujte do 2 hodin od otevření ochranné fólie.

Skladování a stabilita

Testy skladujte v uzavřené hliníkové fólii při laboratorní teplotě nebo v lednici (2-30°C). Test je stabilní do doby expirace vyznačené na hliníkové fólii. Ve hliníkové fólii se musí skladovat až do doby použití. **NEZMRAZUJTE!** Nepoužívejte po době expirace.

Odběr vzorků a příprava

- Použijte 1-2 g pevné (nebo 1-2 ml řídké) stolice. Vzorek musí být odebrán do čisté a suché nádoby bez jakýchkoliv transportních medií nebo roztoků.
- Vzorek skladujte v lednici při 2-8 °C nejdéle 24 hodin. Pro delší skladování vzorek zamrazte při teplotě -20 °C. V případě zmrazení, vzorek musí být pro použití zcela rozmrazen při laboratorní teplotě.
- Příprava vzorku stolice:
 - Pro každý vzorek použijte samostatnou nádobku pro odběr.
 - Pomocí víčka zkumavky s kapátkem odeberte cca 125 mg stolice na špičku kapátka. V případě řídké stolice natáhněte cca 125 µl vzorku do kapátka. Vzorek přeneste do zkumavky s diluentem a pečlivě uzavřete.
 - Vortexujte zkumavku se vzorkem 15 sekund.



Pokyny pro použití

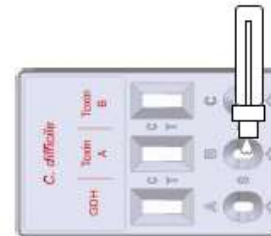
Před vlastním testováním nechte testovací destičku, vzorky, reagentie a kontroly vytemperovat na laboratorní teplotu (15-30°C). Vše otevírejte až bezprostředně před použitím.

1. Testovací destičku použijte po vyjmutí z hliníkové fólie co nejdříve. Nejlepšího výsledku dosáhnete, použijete-li destičku ihned po vyjmutí z fólie.
2. Promíchejte zkumavku se vzorkem pro lepší rozpuštění vzorku. Ulomte špičku zkumavky.
3. Pro každý vzorek použijte samostatnou kazetu. Do každé ze 3 jamek v kazetě kápněte přesně 4 kapky nebo 100 µl připraveného vzorku. Nastavte stopky na 10 minut a spusťte je.
4. Výsledky odečtete po uplynutí 10 minut.
Pokud vzlínání vzorku brání pevné částice, jemně promíchejte vzorek v jamce (S) pomocí kapátka nebo čisté tyčinky. Pokud se stále vzorek nevsakuje, kápněte kapku diluentu do vzorku v jamce, dokud se vzorek nezačne vsakovat.

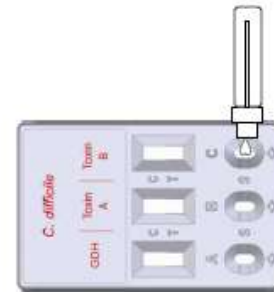
Přidejte 4 kapky naředěného vzorku do všech oválných jamek pro vzorky.



GDH test – jamka A




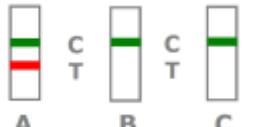




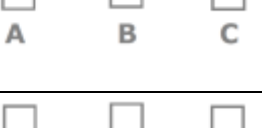

Toxin A test – jamka B



Toxin B test – jamka C

Interpretace výsledků

Poznámka: Intenzita červeného zbarvení reakčního proužku se může lišit mezi jednotlivými stripy. Přítomnost reakčního proužku o jakémkoliv intenzitě červeného zbarvení znamená pozitivní výsledek.

	Zobrazení výsledků	Interpretace výsledků
1.		GDH, toxin A a toxin B negativní. Bez infekce <i>C. difficile</i> .
2.		GDH pozitivní. Toxin A a toxin B negativní. Indikace infekce <i>C. difficile</i> .
3.		GDH a toxin A pozitivní. Toxin B negativní. Indikace infekce <i>C. difficile</i> . Je doporučena další analýza vzorku CE/FDA certifikovaným testem.
4.		GDH a toxin B pozitivní. Toxin A negativní. Infekce <i>C. difficile</i> . Indikace infekce <i>C. difficile</i> .
5.		GDH, toxin A a toxin B pozitivní. Indikace infekce <i>C. difficile</i> .
6.		GDH a toxin B negativní. Toxin A pozitivní. Opakujte test s čerstvým vzorkem. Pokud je opět výsledek pozitivní na toxin A a negativní GDH, je doporučena další analýza vzorku CE/FDA certifikovaným testem.
7.		GDH a toxin A negativní. Toxin B pozitivní. Opakujte test s čerstvým vzorkem. Pokud je opět výsledek pozitivní na toxin B a negativní GDH, je doporučena další analýza vzorku CE/FDA certifikovaným testem.
8.		Toxin A a toxin B pozitivní. GDH negativní. Opakujte test s čerstvým vzorkem. Pokud je opět výsledek pozitivní na toxin B a negativní GDH, je doporučena další analýza vzorku CE/FDA certifikovaným testem.
9.	Jakékoliv další výsledky	Neplatný výsledek: jakýkoliv A, B nebo C. Opakujte test s čerstvým vzorkem. Pokud je výsledek opět stjený, je doporučena další analýza vzorku CE/FDA certifikovaným testem.

Neplatný výsledek: absence zeleného kontrolního proužku v jakémkoliv ze tří testovacích zón (A/B/C) bez ohledu na přítomnost nebo nepřítomnost červených proužků v jakémkoliv ze tří testovacích zón (A/B/C).

Poznámka: Nejčastějšími příčinami neplatného výsledku jsou nesprávný objem vzorku, nedodržení pracovního postupu a znehodnocení reagensů (nesprávné skladování, uplynutí doby expirace). Opakujte postup s novým testem. V případě, že potíže přetrvávají, přestaňte test používat a kontaktujte dodavatele.

V každé testovací zóně (A/B/C) se musí objevit zelený kontrolní proužek, jinak je výsledek neplatný.

Viz tabulka.

Poznámky k interpretaci výsledků

Intenzita červeného proužku v zóně T může kolísat v závislosti na koncentraci antigenu ve vzorku. Tento test je kvalitativní, výsledky nelze hodnotit kvantitativně. Výsledek je považován za pozitivní, i když je proužek zbarven slabě.

Kontrola kvality

Každý strip má zabudovanou procedurální kontrolu (C). Pokud byl test proveden správně, objeví se v oblasti kontroly zeleně zbarvený proužek, který je důkazem, že bylo použito správné množství vzorku, a test je funkční.

Omezení

1. CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B indikuje přítomnost GDH, toxinu A a/nebo toxinu B kvalitativním stanovením. Tento test je kvalitativní, nesnažte se vyhodnocovat výsledky kvantitativně.
2. Nesprávný vzorek může způsobit neplatný výsledek (např. hnědý proužek). V tomto případě naředte vzorek pufrem a test opakujte.
3. Stejný vzorek stolice může způsobit různou intenzitu zbarvení proužků.
4. Test musí být proveden do 2 hodin od vyjmutí z originální hliníkové fólie.
5. Pokud je výsledek testu negativní a klinický nálezn přetrvává, použijte jinou metodu testování. Negativní výsledek nemusí vyloučit možnou infekci *C. difficile*.
6. Tento test je určen pro diagnostiku *C. difficile*. Všechny výsledky musí být interpretovány s klinickým nálezem, a laboratorní výsledky musí být dostupné pro vyšetřujícího lékaře.

Charakteristika

Senzitivita a specifita

Studie analyzující vzorky stolice pacientů s průjmy uvádějí tyto výsledky: Senzitivita a specifita **CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A + Toxin B byla srovnávána s testem (IC test C.diff Quik Chek Complete® TechLab):** Senzitivita >99 % a specifita >99 %.

Analytická senzitivita

Hodnota cut-off tohoto testu je stanovena na koncentraci 0,5 ng/ml pro toxin A, 0,78 ng/ml pro toxin B a 0,39 ng/ml pro glutamátdehydrogenázu (GDH).

Zkřížená reaktivita

Byla zkoumána zkřížená reaktivita testu CoproStrip™ *C. difficile* GDH + Toxin A + Toxin B. Nebyla nalezena žádná zkřížená reaktivita s následujícími mikroorganismy přítomnými ve stolici.

- *Campylobacter spp.*
- *E. coli O157:H7*
- *Listeria monocytogenes*
- *Helicobacter pylori*
- *Shigella spp.*
- *Staphylococcus aureus*
- *Salmonella spp.*
- *Yersinia spp.*
- *Yersinia enterocolitica*



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 77610

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax : +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnostics.com



European Authorized Representative: Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels

Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Literatura

1. Cloud J, Kelly CP. Update on *Clostridium difficile* associated disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007 Jan;23(1):4-9.
2. Owens RC Jr, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG, Muto CA. [Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection.](#) *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 15;46 Suppl 1:S19-31.
3. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. [Clostridium difficile colitis.](#) *N Engl J Med.* 1994 Jan 27;330(4):257-62
4. Voth DE, Ballard JD. [Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease.](#) *Clin Microbiol Rev.* 2005 Apr;18(2):247-63.
5. Savidge TC, Pan WH, Newman P, O'Brien M, Anton PM, Pothoulakis C. *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. [Gastroenterology.](#) 2003 Aug;125(2):413-20.
6. Pituch H, van den Braak N, van Leeuwen W, van Belkum A, Martirosian G, Obuch-Woszczatyński P, Łuczak M, Meisel-Mikołajczyk E. Clonal dissemination of a toxin-A-negative/toxin-B-positive *Clostridium difficile* strain from patients with antibiotic-associated diarrhea in Poland. [Clin Microbiol Infect.](#) 2001 Aug;7(8):442-6.
7. Shin BM, Kuak EY, Yoo SJ, Shin WC, Yoo HM., Emerging toxin A-B+ variant strain of *Clostridium difficile* responsible for pseudomembranous colitis at a tertiary care hospital in Korea. [Diagn Microbiol Infect Dis.](#) 2008 Apr;60(4):333-7.
8. Lyerly DM, Barroso LA, Wilkins TD. Identification of the latex test-reactive protein of *Clostridium difficile* as glutamate dehydrogenase. [J Clin Microbiol.](#) 1991 Nov;29(11):2639-42.
9. Carman RJ, Wickham KN, Chen L, Lawrence AM, Boone JH, Wilkins TD, Kerkering TM, Lyerly DM. Glutamate dehydrogenase is highly conserved among *Clostridium difficile* ribotypes. [J Clin Microbiol.](#) 2012 Apr;50(4):1425-6.

Symbols for IVD components and Reagents

	Manufacturer		For in vitro diagnostic use only
	Authorized representative		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by
	Sample diluent		