



Clostridium difficile GDH

używać tylko do badań in vitro 

Nr kat.: ICDG-602

Szybki test diagnostyczny in vitro do wykrywania antygeny GDH Clostridium difficile w próbkach ludzkiego kału.

Do użytku in vitro. Wyłącznie do użytku profesjonalnego.

PRZEZNACZENIE

Clostridium difficile GDH Rapid Test Cassette jest szybkim, immunochromatograficznym testem do jakościowego wykrywania antygenów C. difficile w próbkach kału pacjentów, służącym do jakościowej oceny obecności antygenów dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) w próbce kału pochodzącej od pacjenta.

STRESZCZENIE

Clostridium difficile należy do grupy oportunistycznych bakterii anaerobowych. Bakterie te namnażają się w jelitach, gdy fizjologiczna flora zostaje osłabiona po antybiotykoterapii.^{1,2,3} Wirulentne szczepy Clostridium difficile powodują rzekomobłoniaste zapalenie jelit oraz biegunkę o ostrym przebiegu będące potencjalnie śmiertelnym zagrożeniem.⁴ Choroba wywoływana jest przez dwie toksyny produkowane przez wirulentne szczepy: toksynę A, która jest endotoksyną i toksynę B, która jest cytotoksyną uszkadzającą komórki. Część szczepów produkuje toksyny A i B, natomiast inne produkują wyłącznie toksynę B. Potencjalna rola trzeciej toksyny (binarnej) w patogenie choroby pozostaje wciąż tematem dyskusji.⁴ Diagnostyka zakażenia opiera się o detekcję dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) w materiale pochodzącym od pacjenta, gdyż enzym ten stanowi doskonały marker wskazujący na obecność C. difficile w badanym materiale, ponieważ dehydrogenaza glutaminianowa produkowana jest przez wszystkie szczepy w dużych ilościach.^{5,6} The Clostridium difficile GDH Rapid Test Cassette pozwala na detekcję dehydrogenazy glutaminianowej Clostridium difficile w próbkach kału pacjenta. Dla próbek z dodatnim wynikiem testu zalecane jest określenie wirulentności wykrytych w badaniu bakterii.

ZASADA

Gotowy do użycia zestaw, którego zasada działania oparta jest o technologię membranową z koloidalnym złotem. Czułość testu została wzmocniona dzięki obecności mobilnych przeciwciał skierowanych przeciw GDH C. difficile przylaczonych do cząsteczek koloidalnego złota. Nitrocelulozowa membrana jest pokryta dwoma rodzajami przeciwciał skierowanych przeciwko antygenom dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) C. difficile. Jeden z nich jest mobilny, opłaszczony na cząsteczkach koloidalnego złota, ma on zdolność przemieszczania się po membranie razem z próbą od studzienki startowej (S), przez pole testowe (T) aż do pola kontrolnego (C), drugi natomiast zakotwiczony jest w regionie (T) testu.

Próbkę kału należy rozpuścić w buforze ekstrakcyjnym, który dołączony jest do zestawu. Materiał badany zawieszony w buforze ekstrakcyjnym wchodzi w kontakt z nitrocelulozową membraną próbki, dzięki czemu koniugaty z przeciwciałem skierowanym przeciwko GDH C. difficile wędrują po membranie na zasadzie dyfuzji biernej. Naniesienie kropli próbki badanej na pole testowe S prowadzi do formowania się na membranie immunokompleksów przeciwciała anty-GDH-znakowane przeciwciała mobilne. Taki kompleks porusza się siłami kapilarnymi po membranie. W przypadku obecności w badanym materiale dehydrogenazy (GDH) pochodzącej od C. difficile, kompleks porusza się siłami kapilarnymi po membranie, gdzie zostaje wychwycony przez unieruchomione przeciwciała w regionie testu (T), co z kolei prowadzi do wytworzenia barwnej linii w obszarze T. Rezultat badania można odczytać po 10 minutach od naniesienia próbki na studzienkę startową.

ODCZYNNIKI

Kasetka testowa zawiera nanocząsteczki anty-Clostridium GDH oraz nanocząsteczki anty-Clostridium GDH opłaszczone na membranie.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności zmierzające do otrzymania wyniku testu powinny być prowadzone zgodnie z dobrą praktyką laboratoryjną (GLP, ang. Good Laboratory Practice)
- Test służy jedynie do diagnostyki In vitro
- Unikaj dotykania nitrocelulozowej powierzchni palcami
- Stosuj środki ochrony osobistej: rękawiczki, okulary ochronne oraz fartuch laboratoryjny
- Nie używaj kasetek testowych ani buforów różnych serii
- Test i odczynnik są stabilne do daty ważności podanej na opakowaniu. Należy je przechowywać zgodnie z zaleceniami producenta.
- Rękawiczki, materiał badany, próbki oraz test kasetkowy zutylizować do pojemników na odpady zakaźne zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną
- Operator testu odpowiedzialny jest za proces utylizacji powstałych podczas przeprowadzania testu odpadów. Należy upewnić się, czy wszystkie normy dotyczące postępowania z odpadami potencjalnie zakaźnymi zostały zachowane

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Test, tylko w szczelnej firmowej saszetce, można przechowywać w temp. od 2°C do 30°C, czyli w lodówce, bądź w temperaturze pokojowej. Test jest stabilny do daty ważności umieszczonej na opakowaniu. **Nie zamrażać!** Nie używać po upływie terminu ważności (podany na saszetce).

ZBIÓRKA I PRZECHOWYWANIE MATERIAŁU

Próbkę kału należy poddać badaniu tak szybko jak to możliwe. Jeśli badanie nie może zostać wykonane natychmiast, stolec może być przechowywany w temp. 2-8°C przez 3 dni bądź w -20°C przez długi okres czasu. Wyekstrahowane próbki w buforze mogą być przechowywane przez tydzień w temp. 2-8°C lub -20°C przez długi okres czasu. Upewnij się, że próbki kału przeznaczone do badania nie były traktowane formaldehydem lub jego pochodnymi.

MATERIAŁY

Materiały dostarczone

• kasetki testowe	• próbówki ekstrakcyjne z buforem ekstrakcyjnym
• ulotka informacyjna	• zakraplacze

Materiały potrzebne, lecz niedostarczone

• minutnik	• pojemniki do pobierania kału
------------	--------------------------------

WYKONANIE TESTU

Przed przystąpieniem do badania kasetkę testową, bufor, materiał badany oraz próbki kontrolne doprowadzić do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Przygotowanie próbki:

a) dla próbek stałych

Odkręć zakrętkę pojemnika z materiałem do badania, następnie pobierz materiał z trzech przypadkowych miejsc, tak aby zebrać około 50mg kału (odpowiednik 1/4 ziarenka groszku). Nie zgarniaj całej próbki do badania

b) dla próbek kału w stanie ciekłym

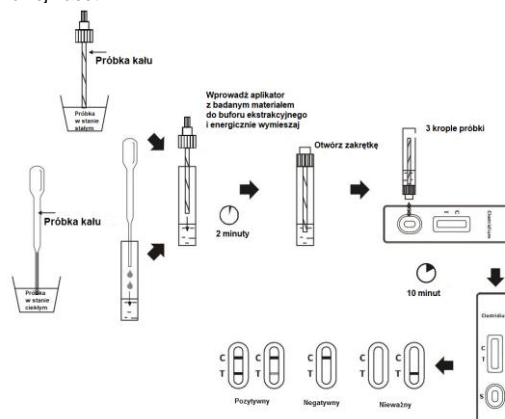
Trzymaj pipetę Pasteura pionowo nad próbą kału, następnie pobierz materiał do pipety, po czym przenieś dwie pełne krople (około 80µL) do próbówki ekstrakcyjnej z buforem. Zakręć próbówkę z buforem ekstrakcyjnym i przeniesionym materiałem, po czym energicznie wytrząśnij w celu dokładnego wymieszania próbki z buforem. Pozostaw po wymieszaniu na dwie minuty.

2. Doprowadź kasetkę testową do temperatury pokojowej, następnie wyjmij ją z fabrycznej folii i przystąp do przeprowadzania badania tak szybko jak to możliwe.

3. Trzymaj próbówkę z materiałem badanym pionowo i odkręć zakrętkę, następnie odwróć próbówkę i **dodaj 3 pełne krople** wyekstrahowanej próbki (około 120µL) do studzienki S kasetki testowej, po czym rozpocznij pomiar czasu. Unikaj dodawania pęcherzyków powietrza na obszar nakrapiania próbki. Patrz instrukcja poniżej.

4. **Odczytaj wynik po 10 minutach** od dodania próbki na okienko S kasetki testowej. Nie odczytuj wyniku po 20 minutach.

Uwaga: Jeśli próbka nie migruje po mieszaninie z powodu obecności cząstek, należy ją zwirować w próbówce zawierającej bufor ekstrakcyjny. Następnie należy pobrać 80µL supernatantu i przeprowadzić badanie ponownie z wykorzystaniem nowej kasetki.



Dystrybutor

 **STAMAR®**
41-300 Dąbrowa Górnicza ul. Perla 5;

tel.: 32 2617720

fax: 32 2617760; e-mail: stamar@stamar.pl



Hangzhou AllTest Biotech Co., Ltd.
#550, Yin Hai Street,
Hangzhou Economic & Technological
Development Area,
Hangzhou - 310018, P.R. China



PL 7000167



Clostridium difficile GDH

używać tylko do badań in vitro

Nr kat.: ICDG-602

INTERPRETACJA WYNIKÓW

DODATNI: Pojawiają się dwie barwne linie. Jedna barwna linia powinna znajdować się w strefie kontrolnej (C), natomiast druga w strefie testu (T). Pozytywny wynik badania świadczy o obecności antygenów dehydrogenazy glutaminowej (GDH) *C. difficile* w badanej próbce.

UWAGI: Intensywność zabarwienia barwnej linii w strefie testu (T) zależy od stężenia antygenów dehydrogenazy glutaminowej (GDH) *C. difficile* w próbce. Dlatego też, każdy nawet barwny ślad w strefie testu powinien być uznany za wynik dodatni.

UJEMNY: Pojawia się jedna barwna linia w obszarze kontrolnym (C). W strefie testu nie obserwuje się linii barwnej, co świadczy o braku antygenów dehydrogenazy glutaminowej (GDH) w badanej próbce lub ich obecności poniżej poziomu wykrywania.

NIEWAŻNY: Brak linii kontrolnej. Przyczyną może być niewystarczająca objętość próbki lub nieprawidłowo przeprowadzony test. Gdy sytuacja się wydarzy, ponownie wykonaj procedurę z wykorzystaniem nowej kasety. Jeżeli problem się powtarza, zaprzestań używania zestawu testowego i skontaktuj się ze swoim dystrybutorem.

UWAGI: W trakcie wysychania membrany może wystąpić delikatny cień w regionie T testu. Nie powinien on być interpretowany jako wynik dodatni.

KONTROLA JAKOŚCI

Kontrola procedury jest zawarta w samym teście. Kolorowa linia pojawiająca się w obszarze kontrolnym (C) stanowi wewnętrzną kontrolą proceduralną. Potwierdza ona, że użyto wystarczającej ilości próbki oraz że procedurę przeprowadzono prawidłowo.

Próbki kontrolne nie są dostarczane w zestawie. Zaleca się włączenie do serii oznaczeń dodatniej próby kontrolnej oraz ujemnej próby kontrolnej, jako zasadę dobrej praktyki laboratoryjnej, która weryfikuje poprawność wyników uzyskanych w teście.

OGRANICZENIA W WYKONANIU TESTU

- Clostridium difficile GDH Rapid Test Cassette (Feces) jest testem jakościowym i na jego podstawie niemożliwa jest ocena stężenia antygenów obecnych w badanym materiale. W celu postawienia prawidłowej diagnozy należy wziąć pod uwagę wyniki innych badań laboratoryjnych oraz stan kliniczny pacjenta.
- Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości występowania innych patogenów w badanym materiale

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Limit detekcji dla testu został określony na podstawie rozpuszczenia oczyszczonego GDH. Na tej podstawie stwierdzono, że stężenie wykrywanego białka to 1ng/mL.

Czułość – specyficzność

Metoda	Inny test			Suma wyników
	Wynik	Dodatni	Ujemny	
Clostridium difficile GDH Rapid Test Cassette (Feces)	Dodatni	78	2	80
	Ujemny	1	119	120
Suma wyników		79	121	200

Względna czułość: 98.7% (95%CI*: 93.1%~100%)

Względna specyficzność: 98.3% (95%CI*: 94.2%~99.8%)

Dokładność: 98.5% (95%CI*: 95.7%~99.7%) * Przedziały ufności

Precyzja wewnątrz serii i precyzja pomiędzy seriami

W celu określenia precyzji wewnątrz serii badaniu poddano bufor ekstrakcyjny oraz kasetkę testową. Do badania wykorzystano próbkę charakteryzującą się obecnością antygenów dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) *C. difficile*, a samo badanie przeprowadzono w warunkach eksperymentalnych 15 razy. Po przeprowadzeniu badań uzyskano całkowitą zgodność odczytu. Precyzja pomiędzy seriami została określona na podstawie badania próbek dodatnich i buforów pochodzących z trzech różnych serii produktu. Wszystkie próbki zostały pozytywnie zidentyfikowane.

Reaktywność krzyżowa

Dokonano oceny reaktywności krzyżowej w teście Clostridium difficile GDH Rapid Test Cassette (Feces). Nie stwierdzono interferencji uzyskanych wyników dla następujących patogenów żołądkowo-jelitowych.

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

BIBLIOGRAFIA

- RamadasBalamurugan, 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
- 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
- Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T. Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*, Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
- 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
- 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.
- 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

SYMBOLY

	Uwaga, patrz instrukcja obsługi		Testy w zestawie		Upoważniony przedstawiciel
	Do badania in vitro		Ważny do		Nie używać ponownie
	Przechowywać w temp. 2-30 °C		Numer serii		Numer artykułu
	Nie używać jeśli opakowanie jest uszkodzone		Producent		Zapoznaj się z instrukcją obsługi

Hangzhou AllTest Biotech Co., Ltd.
#550, Yinhai Street
Hangzhou Economic & Technological Development Area
Hangzhou - 310018, P. R. China
www.alltest.com.cn



EC REP
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Münster
Germany

Numer: 145651603
Aktualizacja ulotki: 2023-05-16

Dystrybutor



41-300 Dąbrowa Górnicza ul. Perła 5;

tel.: 32 2617720

fax: 32 2617760; e-mail: stamar@stamar.pl



Hangzhou AllTest Biotech Co., Ltd.

#550, Yinhai Street,
Hangzhou Economic & Technological
Development Area,
Hangzhou - 310018, P.R. China

ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certification



PL 7000167