


Jednostopniowy test do wykrywania antygenu toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* próbkach ludzkiego kału.

używać tylko do badań in vitro 

Nr kat.: ICDT- 625B

PRZEZNACZENIE

Ten jednostopniowy test, oparty o szybką technikę immunochromatografii, służy do jakościowego wykrywania antygenu toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* w próbkach ludzkiego kału.

STRZESZCZENIE

Clostridium difficile jest bakterią beztlenową działającą jako oportunistyczny patogen: rośnie w jelicie kiedy normalna flora została potraktowana antybiotykami.^{1,2,3} Toksykogenne szczepy *Clostridium difficile* powodują infekcję od łagodnej biegunki do rzekomobłoniastego zapalenia jelita grubego potencjalnie prowadzącego do śmierci.⁴ Choroba jest spowodowana przez dwie toksyny wytwarzane przez toksykogenne szczepy *C. difficile*: toksyna A (uszkodzająca tkanki enterotoksyna) i toksyna B (cytotoksyna). Niektóre szczepy wytwarzają zarówno toksynę A i B, inne tylko toksynę B. Potencjalnie rola trzeciej (binarnej) toksyny w patogenności jest nadal przedmiotem debat.⁴

ZASADA

Test wykrywa dwa różne antygeny w próbkach kału: toksyny A i toksyny B *C. difficile* na dwóch różnych paskach testowych w jednej kasce testowej, wykrywając jednocześnie dwa antygeny specyficzne dla *Clostridium difficile*.

Do badania toksyny A specyficznej dla *C. difficile*.

Membrana jest powleczone przeciwciałem przeciwko toksynie A *C. difficile* i przeciwciałem przeciw toksynie A *C. difficile* w rejonie testowym. Podczas badania, próbka reaguje z cząstką pokrytą przeciwciałem przeciwko toksynie A anty-*C. difficile*. Mieszanina migruje chromatograficznie dzięki działaniu siły kapilarnej, aby reagować z przeciwciałem anty-*C. difficile* toksyna A na membranie i wytworzyć barwną linię. Obecność tej kolorowej linii w obszarze testowym wskazuje na wynik dodatni, a brak wyniku ujemny.

Do badania toksyny B specyficznej dla *C. difficile*.

Membrana jest powleczone przeciwciałem przeciwko toksynie B *C. difficile* i przeciwciałem przeciw toksynie B *C. difficile* w rejonie testowym. Podczas badania, próbka reaguje z cząstką pokrytą przeciwciałem przeciwko toksynie B anty-*C. difficile*. Mieszanina migruje chromatograficznie dzięki działaniu siły kapilarnej, aby reagować z przeciwciałem anty-*C. difficile* toksyna B na membranie i wytworzyć barwną linię. Obecność tej kolorowej linii w obszarze testowym wskazuje na wynik dodatni, a brak wyniku ujemny.

Kolorowa linia zawsze pojawi się w obszarze linii kontrolnej obydwu pasków, wskazując, że dodano odpowiednią objętość próbki i wystąpiło nasiąknięcie membrany

ODCZYNNIKI

Kaseta testowa zawiera antygen anty-*C. difficile* toksyny A, anty-*C. difficile* toksyny B w połączeniu ze złotym koniugatem z anty- *C. difficile* przeciwko toksynie A i B na membranie.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Stosować wyłącznie do profesjonalnej diagnostyki in-vitro. Nie używać po upływie terminu ważności.
- Test powinien pozostać zamknięty do momentu użycia.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w strefie gdzie wykonuje się badania albo przechowuje testy.
- Traktować wszystkie próbki jako materiał zakaźny. Przestrzegać ustalonych środków ostrożności przeciwko zagrożeniu mikrobiologicznemu przez cały czas wykonywania testu. Postępować zgodnie ze standardowymi procedurami właściwego usuwania materiału zakaźnego.
- Podczas testowania nosić odzież ochronną taką jak fartuchy laboratoryjne, jednorazowe rękawiczki i okulary.
- Wykorzystane testy wyrzucić zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Nieodpowiednia wilgotność i temperatura niekorzystnie wpływają na wynik testu.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Zestaw testowy powinien być przechowywany w temperaturze pokojowej lub w chłodni (2-30°C). Test jest stabilny do daty ważności wydrukowanej na zamkniętych saszetkach. Do chwili rozpoczęcia wykonywania testu kaseta powinna pozostać w szczelnie zamkniętej saszetce. **NIE ZAMRAŻAĆ** ! Nie używać po upływie terminu ważności.

ZBIÓRKA I PRZYGOTOWANIE MATERIAŁU

Próbki kału muszą zostać zbierane jak najszybciej po pobraniu. Jeśli to konieczne próbka może być przechowywana w temperaturze 2-8°C przez 3 dni lub w -20°C przez dłuższy czas. Wyekstrahowana próbka w buforze może być przechowywana w temperaturze 2-8°C przez 1 tydzień lub w -20°C przez dłuższy czas.

Upewnij się, że próbki nie są traktowane roztworami zawierającymi formaldehyd lub jego pochodne.

MATERIAŁY

Materiały dostarczone

- Kaseta testowa
- Probówki do pobierania próbek z buforem
- Ulotka informacyjna
- Nakraplacz

Materiały potrzebne, lecz nie dostarczone

- Pojemnik do pobierania materiału
- Wirówka i pipeta do pobrania 80 µl – jeżeli wymagane
- Minutnik

WYKONANIE TESTU

Przed przystąpieniem do testu kasety, próbkę kału i/lub próbki kontrolne doprowadzić do temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Pobranie próbki kału:

Zbierz wystarczającą ilość kału (1-2ml lub 1-2g) do czystego, suchego pojemnika na próbkę aby uzyskać maksymalną ilość antygenu (jeżeli jest obecny). Najlepsze wyniki zostaną uzyskane, jeżeli test zostanie wykonany w ciągu 6 godzin od pobrania. Pobraną próbkę można przechowywać przez 3 dni w temperaturze 2-8°C jeżeli nie zostanie zbierana w ciągu 6 godzin. W przypadku długotrwałego przechowywania, próbki powinny być przechowywane w temperaturze poniżej -20°C

2. Przygotowanie próbki kału :

Próbki stałe:

Odkręć nakrętkę probówki do pobierania próbek, a następnie **pchnij łosowo aplikator do próbki kału w co najmniej 3 różnych miejscach**, aby zebrać ok. 50 mg kału (co odpowiada ¼ grochu). Nie zgarniaj próbki kału.

Próbki płynne:

Trzymaj pionowo zakraplacz, aspiruj na próbkę kału, a następnie przenieś około 80 µl do probówki na próbkę zawierającą bufor do ekstrakcji.

Zakręć probówkę, a następnie **energicznie wstrząśnij, aby wymieszać próbkę** i bufor do ekstrakcji. Pozostaw probówkę na 2 minuty.

3. Przed otwarciem testu doprowadź go do temperatury pokojowej. Wyjmij kasety testową z opakowania i użyj jej jak najszybciej. Najlepsze wyniki uzyskuje się, jeśli badanie zostanie wykonane natychmiast po otwarciu testu.

4. Trzymaj probówkę pionowo, odkręć zakrętkę. Odwróć probówkę i przenieś 3 pełne krople wyekstrahowanej próbki (ok. 120 µl) na każde pole testowe (S) testu i uruchom zegar. Unikaj pęcherzyków powietrza. Zobacz ilustrację poniżej

5. Odczytaj wyniki po 10 minutach. Nie interpretuj wyników po upływie 20 minut.

Uwaga: Jeżeli próbka nie migruje (obecność cząsteczek), odwiruj wyekstrahowane próbki zawarte w fiolce z buforem. Pobierz 120 µl supernantu i rozpocznij test od nowa, na nowej kasety, zgodnie z instrukcją znajdującą się powyżej.

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, Yin Hai Street,
Hangzhou Economic & Technological
Development Area,
Hangzhou -310018, P.R. China



Jednostopniowy test do wykrywania antygenu toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* próbkach ludzkiego kału.

używać tylko do badań in vitro 

Nr kat.: ICDT- 625B

WYDAJNOŚĆ

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności testu dla toksyny A wynosi 2 ng/ml, a dla toksyny B 7g/ml

Czułość i specyficzność

Wyniki dla toksyny A

Test <i>C. difficile</i>	Metoda	Inny szybki test		Suma Wyników
	Wyniki	Dodatni	Ujemny	
	Dodatni	115	5	120
	Ujemny	7	173	180
	Suma wyników	22	178	300

Względna czułość: 94.3% (95%CI*: 88.5%-97.7%) * przedział ufności

Względna swoistość: 97.2% (95%CI*: 93.6%-99.1%)

Dokładność: 96.0% (95%CI*: 93.1%-97.9%)

Wyniki dla toksyny B

Test <i>C. difficile</i>	Metoda	Inny szybki test		Suma Wyników
	Wyniki	Dodatni	Ujemny	
	Dodatni	112	5	118
	Ujemny	10	172	182
	Suma wyników	22	178	300

Względna czułość: 91.8% (95%CI*: 85.4%-96.0%) * przedział ufności

Względna swoistość: 96.6% (95%CI*: 92.8%-98.8%)

Dokładność: 94.7% (95%CI*: 91.5%-96.9%)

PRECYZJA

Powtarzalność i odtwarzalność

W celu sprawdzenia dokładności między seriami (powtarzalności) te same pozytywne próbki i roztwór buforowy były powtarzane 3 razy na zestawach z tej samej partii produkcyjnej w tych samych warunkach eksperymentalnych. Wszystkie obserwowane wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami. W celu sprawdzenia dokładności między partiami (odtwarzalności), niektóre próbki (dodatnie i buforowe) powtórzono na zestawach z trzech różnych partii produkcyjnych. Wszystkie wyniki zostały potwierdzone zgodnie z oczekiwaniami.

Reakcje krzyżowe

Przeprowadzono badania celem określenia reakcji krzyżowych testu. Brak reaktywności względem patogenów przewodu pokarmowego, występują sporadycznie w następujący sposób:

<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>

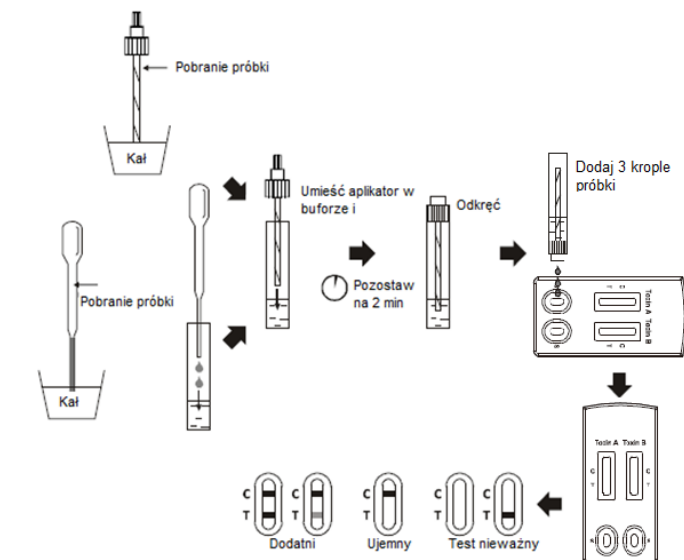
Interferencje

Do testu zostały dodane następujące potencjalnie interferujące substancje do próbek dodatnich i ujemnych:

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

BIBLIOGRAFIA

1. Ramadass Balamurugan, 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



INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki należy interpretować w następujący sposób:

Wynik dodatni: Pojawiły się dwie linie, jedna linia w kontrolnej strefie kasety (C), druga w testowej strefie kasety (T).

Uwaga: Intensywność koloru w obszarze linii testowej (T) będzie różnić się w zależności od stężenia antygenu *Clostridium difficile* obecnego w próbce. Dlatego każdy odcień koloru w obszarze linii testowej (T) powinien być uważany za dodatni.

Wynik ujemny: Pojawiła się jedna kolorowa linia w obszarze kontrolnym (C). W obszarze testowym (T) nie obserwuje się linii.

Test nieważny: Brak linii kontrolnej. Najbardziej prawdopodobną przyczyną braku linii kontrolnej jest niewystarczająca objętość próbki albo nieprawidłowe przeprowadzenie testu. Należy przebiec procedurę i powtórzyć badanie z użyciem nowej kasety. Jeśli problem będzie się powtarzał zaprzestać używania tego zestawu i skontaktować się z dostawcą.

Uwaga: podczas procesu suszenia na lini testowej może pojawić się bardzo słaby cień. Nie należy tego uważać za wynik pozytywny.

KONTROLA JAKOŚCI

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

Próbki kontrolne dodatnie i ujemne nie są dostarczane z tym zestawem. Zaleca się jednak włączenie do serii oznaczeń dodatniej próby kontrolnej oraz ujemnej próby kontrolnej, jako zasadę dobrej praktyki laboratoryjnej, potwierdzenia poprawności procedury i kontroli działania testu.

OGRANICZENIA W WYKONANIU TESTU

1. Test jest przeznaczony tylko do diagnostyki In vitro.
2. Test jest jakościowy i nie można przewidzieć stężenia antygenów obecnych w próbce. W celu pełnej diagnozy należy uwzględnić pełną diagnozę
3. Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Dystrybutor:


 **STAMAR®**

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



Jednostopniowy test do wykrywania antygenu toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* próbkach ludzkiego kału.

używać tylko do badań in vitro 

Nr kat.: ICDT- 625B

SYMBOLE

	Zapoznaj się z treścią ulotki		Testy w zestawie		Upoważniony przedstawiciel
	Do badania in vitro		Ważny do		Nie używać ponownie
	Przechowywać w temp.		Numer serii		Numer artykułu
	Nie używać jeżeli opakowanie jest uszkodzone				

Numer: 146282102
Data: 2023-05-17

Dystrybutor:

 **STAMAR®**

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

