

**Przeznaczenie testu**: Test CoproStrip GDH + Tox A + Tox B jest szybkim immunochromatograficznym testem kasetkowym typu combo, do jednoczesnego, jakościowego wykrywania w ludzkim kale dehydrogenazy glutaminianu (GDH), antygenów Toksyny A i Toksyny B *Clostridium difficile* i jest pomocny w diagnostyce infekcji wywołanych przez *C. difficile*.

|  |
| --- |
| **STRESZCZENIE I OPIS TESTU** |

Beztlenowe, gram-dodatnie bakterie *Clostridium difficile*, są wiodącym czynnikiem związanym z biegunką antybiotykową i rzekomobłoniastym zapaleniem okrężnicy (1). Patogen ten zdolny jest wywoływać chorobę, która może być groźna lub śmiertelna jeśli na czas nie zostanie zdiagnozowana i leczona. Wystawienie na działanie antybiotyków jest głównym czynnikiem ryzyka infekcji *C. difficile*. Infekcja może rozwinąć się, jeśli normalna flora żołądkowo-jelitowa jest zaburzona terapią antybiotykową a osoba nabywa szczep *C. difficile* produkujący toksyny, zazwyczaj drogą fekalno-oralną (2). Kluczowym czynnikiem wirulencji *C. difficile* są toksyna A i toksyna B (3, 4). Toksyny te wykazują wysokie podobieństwo sekwencji i działania. Toksyna A została opisana jako enterotoksyna uszkadzająca nabłonek, która przyciąga krwinki białe obojętnochłonne i monocyty, toksyna B jest silną cytotoksyną, która niszczy komórki nabłonkowe okrężnicy (5). Szczepy bardziej zjadliwe produkują obydwie toksyny, jakkolwiek szczepy toksyno A ujemne/ toksyno B dodatnie również są w stanie spowodować chorobę (6, 7). Dehydrogenaza glutaminianu (GDH) *Clostridium difficile* jest enzymem wytwarzanym w dużych ilościach przez wszystkie szczepy toksynotwórcze – nietoksynotwórcze, i jest doskonałym markerem zakażenia tym organizmem.

**ZASADA PROCEDURY TESTU**

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

Szybki, jednostopniowy test do jednoczesnego, jakościowego wykrywania dehydrogenazy glutaminianu (GDH), antygenów Toksyny A i Toksyny B *Clostridium difficile* w ludzkim kale.

**Instrukcja**

Zestaw testu na 20 oznaczeń

(nr katalogowy 41220)

Wyłącznie do profesjonalnego zastosowania w diagnostyce in vitro

Przechowywać w temperaturze 2-30°C. **Nie zamrażać**.

CoproStripTM C. difficile GDH + Tox A + Tox B jest jakościowym testem immunochromatograficznym do wykrywania dehydrogenazy glutaminianu (GDH), antygenów toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* w ludzkim kale.

**Savyon® Diagnostics Ltd.**

3 Habosem St. Ashdod 77610

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnostics.com

Membrana Testu A jest pokryta przeciwciałem monoklonalnym przeciwko antygenowi GDH *Clostridium difficile*, membrana Testu B jest pokryta przeciwciałem monoklonalnym przeciwko antygenom toksyny A *Clostridium difficile* a membrana Testu C jest pokryta przeciwciałem monoklonalnym przeciwko antygenom toksyny B *Clostridium difficile* w obszarze linii testu. Podczas badania zachodzi reakcja między próbką a zabarwionymi na czerwono cząstkami opłaszczonymi przeciwciałami przeciwko GDH w Teście A i/lub przeciwciałami przeciwko toksynie A w Teście B i/lub przeciwciałami przeciwko toksynie B w Teście C, które uprzednio zostały wysuszone na pasku testowym. Mieszanina porusza się w górę na membranie siłami kapilarnymi. W przypadku wyniku dodatniego w Teście A specyficzne przeciwciała obecne na membranie reagują z mieszaniną koniugatu tworząc jedną czerwoną linię. W przypadku wyniku dodatniego w Teście B specyficzne przeciwciała obecne na membranie reagują z mieszaniną koniugatu tworząc jedną czerwoną linię. W przypadku wyniku dodatniego w Teście C specyficzne przeciwciała obecne na membranie reagują z mieszaniną koniugatu tworząc jedną czerwoną linię. Mieszanina nadal porusza się wzdłuż membrany do miejsca unieruchomionego przeciwciała w obszarze paska kontrolnego. Zabarwiony na zielono pasek zawsze pojawia się w linii kontrolnej i jest weryfikacją odpowiedniej ilości dodanej próbki, właściwego przepływu oraz jako wewnętrzna kontrola dla odczynników.

**DOSTARCZONE MATERIAŁY**

* Kasetki CoproStripTM C. difficile GDH + Tox A + Tox B
* Instrukcje użycia
* Fiolki z buforem do przygotowania próbki

**MATERIAŁY NIEDOSTARCZONE**

* Pojemniki do pobierania próbki
* Rękawiczki jednorazowe
* Minutnik

**OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI**

* Wyłącznie do profesjonalnego zastosowania w

diagnostyce *in vitro.*

* Nie stosować po upływie daty ważności.
* Do momentu użycia test powinien pozostawać w

zamkniętej saszetce.

* Nie stosować testu w przypadku uszkodzonego

opakowania.

* Należy przestrzegać Dobrych Praktyk

Laboratoryjnych. Nosić odzież ochronną, stosować

jednorazowe rękawiczki, nie jeść, nie pić i nie palić

w miejscu badania.

* Wszystkie próbki należy uznać za potencjalnie

niebezpieczne i obchodzić się z nimi w ten sam

sposób jak z czynnikami zakaźnymi.

* Po zakończeniu badania test należy wyrzucić do

odpowiedniego pojemnika na odpady biologicznie

niebezpieczne.

* Test należy przeprowadzić w ciągu 2 godzin od

momentu otwarcia zapieczętowanej aluminiowej

saszetki.

**PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ**

Przechowywać w opakowaniu w zamkniętej saszetce w lodówce lub w temperaturze pokojowej (2-30°C). Test jest stabilny do daty ważności umieszczonej na opakowaniu. Do czasu jego użycia test musi pozostać w zamkniętym opakowaniu. Nie zamrażać.

**POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBKI**

Pobrać wystarczającą ilość kału (1-2g lub ml dla próbki płynnej). Próbki kału należy pobrać do suchego i czystego pojemnika (bez środków konserwujących lub pożywek transportowych). Próbki można przechowywać w lodówce (2-8°C) przez 24 godziny przed badaniem. Przy dłuższym przechowywaniu, próbki należy zamrozić w temperaturze -20°C. W tym przypadku próbki przed badaniem należy całkowicie rozmrozić i doprowadzić do temperatury pokojowej.

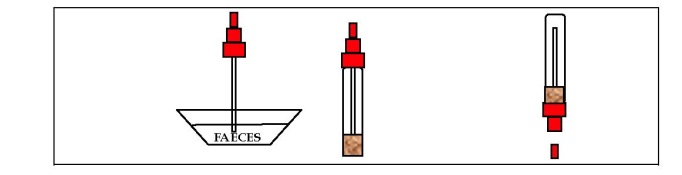
**Przygotowanie pobranej próbki (patrz Ilustracja 1):**

Do każdej próbki należy stosować oddzielne fiolki z buforem. Odkręcić nakrętkę fiolki i wprowadzić patyczek do próbki kału w celu pobrania próbki (około 125 mg). Zamknąć fiolkę z buforem i próbką kału. Wytrząsać na vorteksie przez 15 sekund w celu właściwego zawieszenia. Dla płynnych próbek kału pobrać przy pomocy kroplomierza 125 µl kału i dodać do fiolki z buforem.

Ilustracja 1

Pobór próbki Mieszanie próbki Odłamanie

z buforem końcówki fiolki



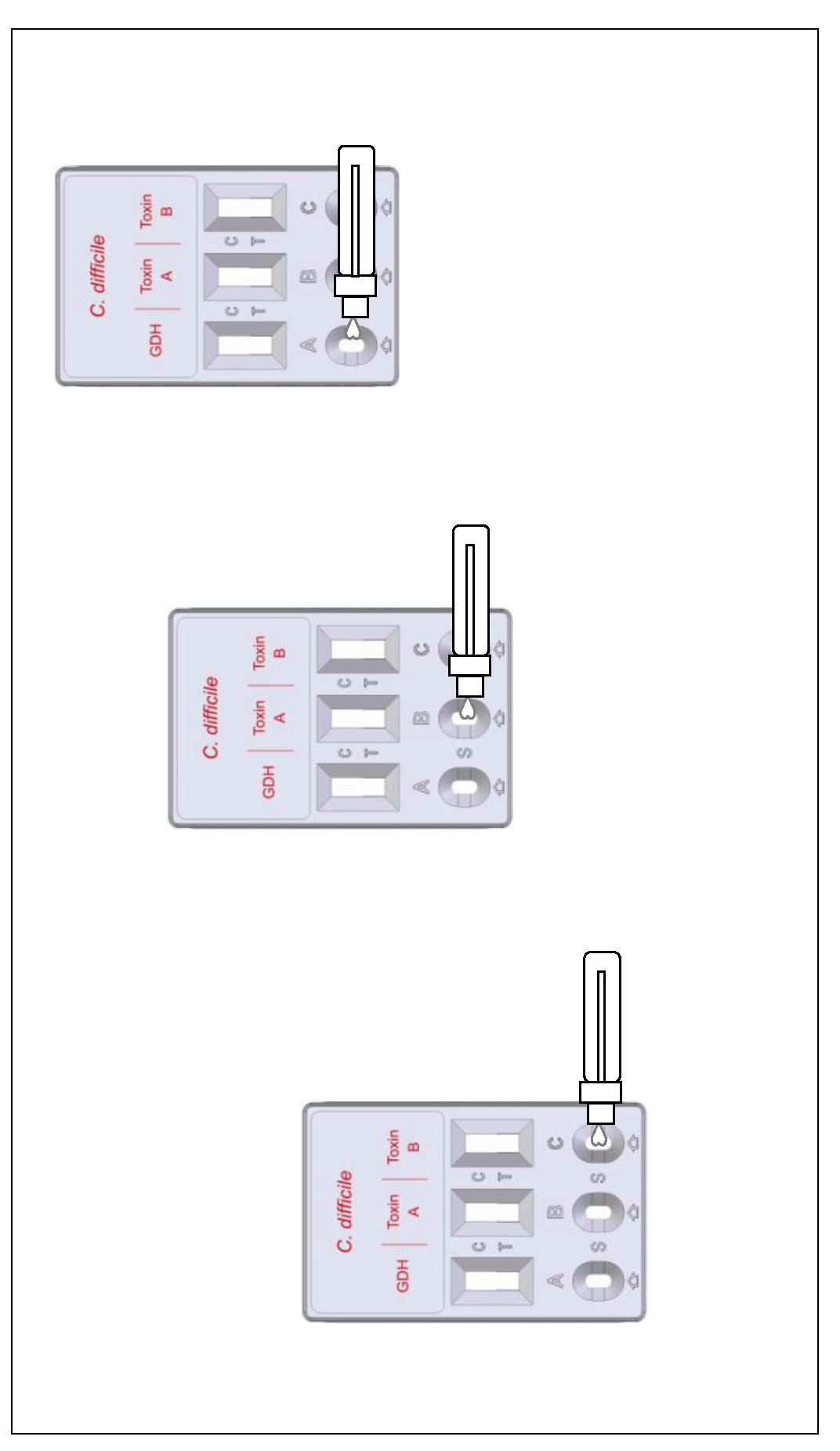
**PROCEDURA**

**Przed badaniem doprowadź testy, próbki stolca i bufor do temperatury pokojowej (15-30°C). Nie otwierać saszetek z testem do czasu gotowości do przeprowadzenia testu.**

1. Wyciągnąć kasetkę z zamkniętej saszetki i użyć tak szybko jak to jest możliwe.
2. Potrząsnąć fiolką z zawieszoną próbką kału w celu dobrej dyspersji próbki. Odłamać końcówkę fiolki.
3. Użyć oddzielnych kasetek dla każdej próbki. Nanieść dokładnie 4 krople lub 100 µl do każdej studzienki próbki (tj. studzienki GDH, studzienki Toxin A, studzienki Toxin B, zaznaczonej jako S). Nastawić minutnik.
4. Odczytać wyniki po **10 minutach** od naniesienia próbki.

Jeśli test nie przebiega ze względu na stałe cząsteczki kału, za pomocą patyczka zamieszać próbkę dodaną do okienka próbki (S). Jeśli nadal nie działa, nanieść kroplę rozcieńczalnika do momentu ujrzenia płynu poruszającego się w obszarze reakcji.

Ilustracja 2



Toxin B Test - studzienka C

Dodać 4 krople rozcieńczonej próbki do każdego okrągłego okienka

Toxin A Test - studzienka B

GDH Test – studzienka A

**INTERPRETACJA WYNIKÓW**

Ilustracja 3



Toksyna B dodatnia. GDH i Toksyna A ujemne

Toksyna A dodatnia. GDH i Toksyna B ujemne

GDH dodatnie. Toksyna A i Toksyna B ujemne

Toksyna A i Toksyna B dodatnie

GDH i Toksyna B dodatnie

GDH i Toksyna A dodatnie

GDH, Toksyna A i B *Clostridium difficile* ujemne

Jakikolwiek inny wynik

Wynik nieważny: dla A, B lub C zaleca się powtórzenie testu stosując tę samą próbkę przy pomocy innego testu combo.

**TEST NIEWAŻNY**: Całkowity brak zielonej, linii kontrolnej w jednym, dwóch lub trzech Testach (A/B/C) niezależnie od pojawienia się lub braku czerwonych linii w jednym lub obydwu Testach (A/B/C).

Uwaga: niewystarczająca ilość próbki, niewłaściwe techniki proceduralne, lub zepsucie odczynników są w większości przypadków głównymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnych. Przejrzeć procedurę i powtórzyć badanie stosując nowy test. Jeśli sytuacja utrzymuje się i powtarza, zaprzestać stosowania zestawu testu skontaktować się z lokalnym dystrybutorem. Patrz powyższa ilustracja 3.

**UWAGI DOTYCZĄCE INTERPRETACJI WYNIKÓW**

Intensywność paska koloru czerwonego w obszarze linii wyniku (T) będzie różniła się w zależności od stężenia antygenów w próbce. Jednakże, ani wartość ilościowa, ani stosunek wzrostu stężenia antygenów nie mogą być określone w tym teście jakościowym.

**KONTROLA JAKOŚCI**

Test zawiera wewnętrzne kontrole procedury widoczne w postaci zielonych linii pojawiających się w obszarze linii kontrolnej (C). Potwierdzają one wystarczającą ilość dodanej próbki oraz właściwą technikę wykonania.

**OGRANICZENIA PROCEDURY**

1. Test CoproStripTM C. difficile GDH + Tox A + Tox B wykrywa tylko obecność GDH, toksyny A i/lub toksyny B w próbce (wykrycie jakościowe). Test nie określa wartości ilościowej ani stosunku wzrostu stężenia antygenów.
2. Nadmiar próbki może prowadzić do błędnych wyników (pojawia się brązowy pasek). W takim przypadku, rozcieńczyć próbkę buforem i powtórzyć test.
3. Niektóre próbki kału mogą zmniejszać intensywność pasków kontrolnych.
4. Test należy wykonać w ciągu 2 godzin od otwarcia z zapieczętowanej, aluminiowej saszetki.
5. Jeśli wynik testu jest ujemny a objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się przeprowadzenie dodatkowych testów z zastosowaniem innych metod klinicznych. Ujemny wynik w żadnym przypadku nie wyklucza możliwości infekcji spowodowanej *Clostridium difficile*.
6. Test dostarcza wstępnej diagnozy infekcji spowodowanej przez *Clostridium difficile*. Wszystkie wyniki należy interpretować razem z innymi informacjami klinicznymi i wynikami laboratoryjnymi dostępnymi dla lekarza oraz powinny być sprawdzone dodatkowymi technikami laboratoryjnymi.

**CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW**

**CZUŁOŚĆ I SPECYFICZNOŚĆ**

Badania z wykorzystaniem próbek kału od pacjentów z biegunką dały następujące wyniki: Czułości i specyficzności przy zastosowaniu testu CoproStripTM C. difficile GDH + Tox A + Tox B w porównaniu z innym komercyjnym testami immunochromatograficznym (IC test: *C. DIFF QUIK CHEK* Complete® TechLab)

wyniosły:

Czułość>99% i specyficzność >99%.

**REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA**

Ocena została przeprowadzona w celu określenia reaktywności krzyżowej testu CoproStripTM C. difficile GDH + Tox A + Tox B. Brak reakcji krzyżowej z wymienionymi mikroorganizmami żołądkowo-jelitowymi sporadycznie występującymi w kale.

*Campylobacter spp*

*E. coli O157:H7*

*Listeria monocytogenes*

*Helicobacter pylori*

*Shigella spp.*

*Staphilococcus aureus*

*Salmonella spp*

*Yersinia spp*

*Yersinia enterocolitica*

**BIBLIOGRAFIA**

1. [Cloud J,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Cloud%20J%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17133077) [Kelly CP.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Kelly%20CP%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=17133077) Update on *Clostridium difficile* associated disease. [Curr Opin Gastroenterol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=2007%20cloud%20kelly%20difficile) 2007 Jan;23(l):4-9.
2. Owens RC Jr, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG. Muto CA. [Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18177218)Clin Infect Dis. 2008 Jan 15;46 Suppl 1:S19-31.
3. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. [*Clostridium difficile colitis.*](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8043060)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.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15831824) Clin Microbiol Rev. 2005 Apr;18(2):247-63.
5. [Sayidae TC,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Savidge%20TC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) [Pan WH,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Pan%20WH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) [Newman P,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Newman%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) [0'brien M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=O'brien%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) [Anton PM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Anton%20PM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) [Pothoulakis C.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Pothoulakis%20C%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=12891543) *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. [Gastroenterology.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=savidge%202003%20difficile)
6. [Pituch H,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Pituch%20H%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [van den Braak N,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=van%20den%20Braak%20N%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [van Leeuwen W,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=van%20Leeuwen%20W%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [van Belkum A,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=van%20Belkum%20A%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [Martirosian G,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Martirosian%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [Obuch-Woszczatyński P,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Obuch-Woszczaty%C5%84ski%20P%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [Łuczak M,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=%C5%81uczak%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) [Meisel-Mikołajczyk F.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Meisel-Miko%C5%82ajczyk%20F%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11591209) Clonal dissemination of a toxin-A-negative/toxin-B-positive *Clostridium difficile* strain from patients with antibiotic-associated diarrhea in Poland. [Clin Microbiol Infect.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11591209) 2001 Aug;7(8):442-6.
7. [Shin BM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Shin%20BM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18082994) [Kuak EY,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Kuak%20EY%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18082994) [Yoo SJ,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Yoo%20SJ%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18082994) [Shin WC,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Shin%20WC%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18082994) [Yoo HM.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Yoo%20HM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=18082994), Emerging toxin A-B+ variant strain of *Clostridium difficile* responsible for pseudomembranous colitis at a tertiary care hospital in Korea. [Diagn Microbiol Infect Dis.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18082994) 2008 Apr;60(4):333-7.
8. [Lyerly DM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Lyerly%20DM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=1774279) [Barroso LA,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Barroso%20LA%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=1774279) [Wilkins TD.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Wilkins%20TD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=1774279) Identification of the latex test-reactive protein of Clostridium difficile as glutamate dehydrogenase. [J Clin Microbiol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1774279) 1991 Nov;29(ll):2639-42.
9. [Carman RJ,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Carman%20RJ%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Wickham KN,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Wickham%20KN%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Chen L,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Chen%20L%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Lawrence AM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Lawrence%20AM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Boone JH,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Boone%20JH%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Wilkins TD,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Wilkins%20TD%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Kerkering TM,](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Kerkering%20TM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) [Lyerly DM.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Lyerly%20DM%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=22301027) Glutamate dehydrogenase is highly conserved among Clostridium difficile ribotypes. [J Clin Microbiol.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=wilkins%20GDH) 2012 Apr;50(4): 1425-6.



**Savyon® Diagnostics Ltd.**

3 Habosem St. Ashdod 77610

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax : +972.8.8523176

E-mail: [support@savvondiaqnostics.com](mailto:support@savyondiagnostics.com)



**European Authorized Representative:**

**Obelis s.a.**

Boulevard Générał Wahis

53, B-1030 Brussels Tel:

+32.2.732.59.54

Fax: +32.2.732.60.03

E-mail [:mail@obelis.net](mailto:mail@obelis.net)

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Symbole dla składników IVD I Odczynników** | | | |
|  | Producent |  | Wyłącznie do zastosowania w diagnostyce i*n vitro* |
|  | Autoryzowany przedstawiciel |  | Zapoznaj się z instrukcją użytkownai |
|  | Zawiera wystarczającą ilosć dla <n> testów |  | Przechowywać w suchym pomieszczeniu |
|  | Kod katalogowy |  | Ograniczenie temperatury |
|  | Numer LOT |  | Zużyj do |
| **DIL** | Rzcieńczalnik do próbki |  |  |