



## CoproStrip™ C. difficile

### GDH + Toxin A + Toxin B

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

#### Instrukcja obsługi

Zestaw testowy do 20 oznaczeń  
(Nr kat. 41220)

Wyłącznie do stosowania w profesjonalnej diagnostyce *in vitro*

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



#### Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

IZRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Faks: +972.8.8523176

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

**Przeznaczenie:** Test CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A + Toxin 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*.

#### PODSUMOWANIE I OBJAŚNIENIA:

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, jeżeli na czas nie zostanie zdiagnozowana i leczona. Wystawienie na działanie antybiotyków jest głównym czynnikiem ryzyka infekcji *C. difficile*. Infekcja może rozwinąć się, jeżeli normalna flora żołądkowo-jelitowa zostanie zaburzona antybiotykoterapią, a osoba nabędzie szczep *C. difficile* produkujący toksyny, zazwyczaj drogą fekalno-oralną (2). Kluczowymi czynnikami 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 neutrofile i monocyty, toksyna B jest silną cytotoxyną, która niszczy komórki nabłonkowe okrężnicy (5). Szczepy bardziej zjadliwe produkują obydwie toksyny, jednakże 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 i nietoksynotwórcze, co czyni ją doskonałym markerem zakażenia tym organizmem (8, 9).

#### ZASADA PROCEDURY

CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A + Toxin B jest jakościowym testem immunologicznym do wykrywania dehydrogenazy glutaminianu (GDH), antygenów toksyny A i toksyny B *Clostridium difficile* w ludzkim kale.

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 paskach testowych. 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 służy jako wewnętrzna kontrola dla odczytników.

#### MATERIAŁY ZNAJDUJĄCE SIĘ W ZESTAWIE

- Kasetki CoproStrip™ C. difficile GDH+ Toxin A+ Toxin B
- Instrukcja użycia
- Fiolki z buforem do przygotowania próbki

#### MATERIAŁY NIEDOSTARCZONE

- Pojemnik do pobierania próbki
- Rękawiczki jednorazowe
- Minutnik

#### OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wyłącznie do stosowania w profesjonalnej diagnostyce *in vitro*.
- Nie wolno używać po upływie daty ważności.
- Test powinien pozostać w zamkniętej saszetce, aż do czasu użycia.
- Nie stosować testu w przypadku uszkodzonego opakowania.
- Należy przestrzegać Dobrych Praktyk Laboratoryjnych, nosić odzież ochronną, używać jednorazowych rękawiczek, nie jeść, nie pić ani nie palić w miejscu badania.

- Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne i postępować z nimi w taki sam sposób, jak z czynnikami zakaźnymi.
- Po przeprowadzeniu badania test należy wyrzucić do odpowiedniego pojemnika na odpady biologicznie niebezpieczne.
- Badanie należy przeprowadzić w ciągu 2 godzin od momentu otwarcia zapieczętowanej aluminiowej saszetki.

## PRZECZYSZCZANIE I STABILNOŚĆ

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

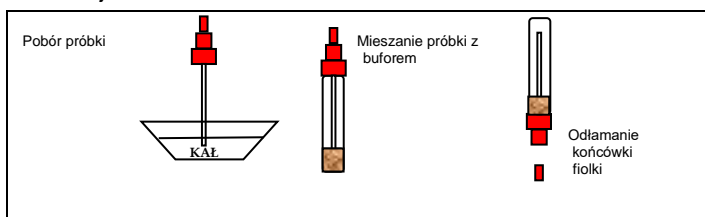
## POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBK

Pobrać wystarczającą ilość kału (1-2 g lub ml w przypadku próbki płynnej). Próbki kału należy pobierać do czystych i suchych pojemników (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 kału (patrz ilustracja 1):

Do każdej próbki należy stosować oddzielne fiolki do przygotowania. Odkręcić nakrętkę fiolki i wprowadzić patyczek do treści kałowej w celu pobrania próbki (około 125 mg). Zamknąć fiolkę z buforem i próbka kału. Wstrząsać na wrotksie przez 15 sekund w celu uzyskania właściwego zawieszenia. W przypadku płynnych próbek kału pobrać przy pomocy kroplomierza 125 µl treści kałowej i dodać do fiolki z buforem.

Ilustracja 1



## PROCEDURA

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

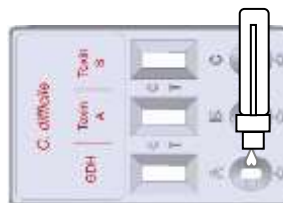
1. Wyciągnąć kasetkę z zamkniętej saszetki i użyć tak szybko jak to jest możliwe.

2. Potrząsnąć fiolką z zawieszoną próbka kału w celu dobrej dyspersji próbki. Odlamać 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.

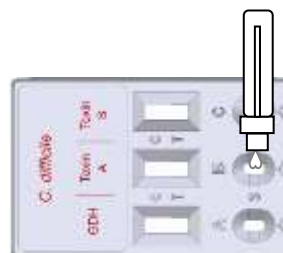
Jeżeli test nie przebiega ze względu na stałe cząsteczki kału, za pomocą patyczka zamieszać próbka dodaną do okienka próbki (S). Jeżeli nadal nie działa, nanieść kroplę rozcieńczalnika do momentu ujżenia płynu poruszającego się w obszarze reakcji.

Ilustracja 2

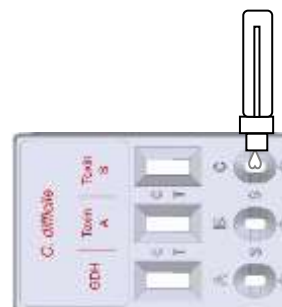
### Dodać 4 krople rozcieńczonej próbki do każdego okrągłego okienka



GDH – studzienka A



Toxyna A – studzienka B



Toxyna B – studzienka C

## INTERPRETACJA WYNIKÓW

*Uwaga: Intensywność czerwonej linii testowej pomiędzy poszczególnymi testami może się różnić. Pojawienie się czerwonej linii o jakiegokolwiek intensywności świadczy o wyniku dodatnim*

Ilustracja 3

	Wskazany wynik	Interpretacja
1.		<p>GDH , toksyna A i B są ujemne.</p> <p>Brak zakażenia <i>C. difficile</i>.</p>
2.		<p>GDH dodatnie. Toksyna A i B są ujemne.</p> <p>Wskazanie zakażenia <i>C. difficile</i>.</p>
3.		<p>GDH i toksyna A są dodatnie. Toksyna B jest negatywna.</p> <p>Wskazanie zakażenia <i>C. difficile</i>. Zalecana dalsza analiza próbki testami zatwierdzonymi przez CE/FDA.</p>
4.		<p>GDH i toksyna B są dodatnie. Toksyna A jest ujemna.</p> <p>Zakażenie <i>C. difficile</i>.</p> <p>Wskazanie zakażenia <i>C. difficile</i>.</p>
5.		<p>GDH , toksyna A i B są dodatnie.</p> <p>Wskazanie zakażenia <i>C. difficile</i>.</p>
6.		<p>GDH i toksyna B są ujemne. Toksyna A jest dodatnia.</p> <p>Należy powtórzyć test z wykorzystaniem świeżej próbki. Jeżeli wynik jest nadal dodatni dla Toksyny A i ujemny dla GDH zalecana jest dalsza analiza próbki, testami zatwierdzonymi przez CE/FDA.</p>
7.		<p>GDH i toksyna A są ujemne. Toksyna B jest dodatnia.</p> <p>Należy powtórzyć test z wykorzystaniem świeżej próbki. Jeżeli wynik jest nadal dodatni dla B i ujemny dla GDH zalecana jest dalsza analiza próbki, testami zatwierdzonymi przez CE/FDA.</p>
8.		<p>Toksyna A i B są dodatnie. GDH jest negatywne.</p> <p>Należy powtórzyć test z wykorzystaniem świeżej próbki. Jeżeli wynik jest nadal dodatni dla B i ujemny dla GDH zalecana jest dalsza analiza próbki, testami zatwierdzonymi przez CE/FDA.</p>
9.	Jakikolwiek inny wynik	Test nieważny: którykolwiek z A, B lub C, powtórzyć test ze świeżą próbką. Jeżeli wyniki pozostają bez zmian zalecana jest dalsza analiza próbki, testami zatwierdzonymi przez CE/FDA

**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. Przeczytać procedurę i powtórzyć badanie, używając nowego testu. Jeżeli symptomy lub problem będą się wciąż utrzymywać, przerwij korzystanie z zestawu testowego i skontaktuj 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 kontrolne procedury widoczne w postaci zielonych linii pojawiających się w obszarze linii kontrolnej (C). Potwierdzają one wystarczającą ilość dodanej próbki oraz właściwą technikę wykonania testu.

#### OGRANICZENIA PROCEDURY

1. Test CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A+ Toxin 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 zapieczętowanej, aluminiowej saszetki.
5. Jeżeli wynik testu jest ujemny a objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się przeprowadzenie dodatkowych badań z zastosowaniem innych metod klinicznych. Ujemny wynik w żadnym przypadku nie wyklucza możliwości infekcji spowodowanej przez *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. Wyniki powinny być sprawdzone dodatkowymi technikami laboratoryjnymi.
7. Próbkę kału z krwią mogą zawierać składniki powodujące niespecyficzne reakcje w teście. Każda próbka kału z krwią, której wynik jest pozytywny, powinna być sprawdzona innymi technikami diagnostycznymi w celu potwierdzenia wyniku.
8. Próbkę kału śluzowego mogą powodować niespecyficzne reakcje w teście. Każda próbka kału śluzowego, której wynik jest dodatni, powinna być sprawdzona innymi technikami diagnostycznymi w celu potwierdzenia wyniku.

#### CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

##### CZUŁOŚĆ I SPECYFICZNOŚĆ

Badania z wykorzystaniem próbek kału od pacjentów z biegunką dały następujące wyniki: Czulości i specyficzność przy zastosowaniu testu CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A + Toxin B w porównaniu z innym komercyjnym testem immunologicznym (IC test: C. DIFF QUIK CHEK Complete® TechLab) wyniosły:

Czułość >99% oraz specyficzność >99%.

##### CZUŁOŚĆ ANALITYCZNA

Wartości graniczne testu zostały ustalone dla stężeń na poziomie 0,5-2 ng/ml dla toksyny A, 0,78-1,56 ng/ml dla toksyny B i 0,39-0,78 ng/ml dla dehydrogenazy glutaminianu (GDH).

##### REAKTYWNOŚĆ KRZYŻOWA

Ocena została przeprowadzona w celu określenia reaktywności krzyżowej kasetki CoproStrip™ C. difficile GDH+Toxin A + Toxin 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.
- *Salmonella* spp
- *Yersinia* spp
- *Yersinia enterocolitica*

#### BIBLIOGRAFIA

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-Woszczatynski P, Łuczak M, Meisel-Mikołajczyk F. 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, Kerkerling TM, Lyerly DM. Glutamate dehydrogenase is highly conserved among *Clostridium difficile* ribotypes. J Clin Microbiol. 2012 Apr;50(4):1425-6.



**Savyon® Diagnostics Ltd.**

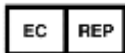
3 Habosem St. Ashdod 7761003

IZRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Faks: +972.8.8523176

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













**Autoryzowany przedstawiciel w Unii Europejskiej: Obelis s.a.**

Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels

Tel.: +32.2.732.59.54 Faks: +32.2.732.60.03

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

Symbole elementów i odczynników do diagnostyki in vitro (IVD)			
	Producent		Wyłącznie do diagnostyki <i>in vitro</i> .
	Upoważniony przedstawiciel:		Przeczytać instrukcję stosowania
	Zawartość wystarczająca do przeprowadzenia a <n> testów		Przechowywać w suchym miejscu.
	Kod katalogowy		Ograniczenie temperatury
	Numer partii		Data ważności
	Rozcieńczalnik do próbki		