

# CLOSTRIDIUM K-SeT

CE

**Kód: K-1520, 20 testů v jednom balení, s odběrovým setem**

**Kód: K-1220, 20 testů v jednom balení, bez odběrového setu**

**Imunochromatografický diagnostický test in vitro pro rychlou detekci antigenu *Clostridium difficile* ve vzorcích lidské stolice**

## I. ÚVOD

*Clostridium difficile* je anaerobní bakterie vyskytující se jako oportunní patogen: Množí se ve střevě když je běžná střevní mikroflóra potlačena např. léčbou antibiotiky. Toxinogenní řetězce *Clostridium difficile* způsobují infekci jenž má následky projevující se od lehkého průjmu až po pseudomembranózní kolitidu, potenciálně vedoucí až k smrti.

Nemoc je způsobena dvěma toxiny produkovaných toxinogenními kmeny *C. difficile*. Toxin A (tkáně poškozující enterotoxin) a Toxin B (cytotoxin). Některé kmeny produkují oba druhy toxinů A a B, některé kmeny produkují pouze toxin B. Potencionální úloha třetího toxinu na patogenitě *C. difficile* je stále debatována.

Použití glutamátdehydrogenázy (GDH) jako antigenového markeru proliferace *C. Difficile* se ukázalo jako velmi efektivní, protože všechny kmeny *C. difficile* produkují velké množství tohoto enzymu.

Clostridium K-SeT umožňuje specifickou detekci GDH *C. Difficile* ve vzorcích stolice. Vzorky s pozitivním výsledkem Clostridium K-SeT by měli být vyšetřeny na další toxigenitu bakterií.

## II. PRINCIP TESTU

Tento test je připraven k okamžitému použití, které je založeno na membránové technologii s koloidním zlatem. Nitrocelulóзовá membrána je senzitivizována protilátkami přímo proti antigenu GDH *Clostridium difficile*. Specifická testu vychází ze specifických protilátek proti GDH *Clostridium difficile*, které jsou konjugovány s koloidním zlatem. Tento konjugát je vysušený na membráně.

Vzorek stolice musí být naředěn pufrovým rozpouštědlem. Po přidání 4 kapek vodné fáze suspenze stolice do jamky pro vzorek na kazetě, rozpuštěný konjugát i vzorek migrují pasivní difúzí. Jsou-li ve vyšetřovaném materiálu přítomny příslušné antigeny, dochází při kontaktu s protilátkami proti GDH *Clostridium difficile* adsorbovanými na nitrocelulóze k vytvoření první červené linky.

Komplex vzorek-konjugát pokračuje v migraci, kde je navázána další složka systému – polyklonální protilátky proti kuřecím IgY protilátkám.

Přebytek konjugátu se na protilátku naváže a vytvoří třetí červenou linku. Jestliže chromatografická reakce proběhla správně, vznikne třetí linka i u negativních vzorků a potvrzuje validitu testu.

Výsledky jsou viditelné během 15 minut po nanesení vzorku.

## III. REAGENCIE A MATERIÁLY

1. Clostridium K-SeT (20 ks)

20 jednotlivě zabalených diagnostických kazet s desikantem.

2. Návod k použití

3. Pufrované rozpouštědlo

-K-1220: 1 lahvička s obsahem 15 ml

-K-1520: 20 ks zařízení pro odběr stolice (FSS) s obsahem 2 ml a odběrovou spirálou

Materiál, jenž lze samostatně objednat:

-Negativní kontrola (CTR-1000)

## IV. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

§ Test musí být proveden podle „Správné laboratorní praxe“ (SLP).

§ Clostridium K-SeT test je pouze pro diagnostiku in vitro.

§ Obal musí být otevírán s opatrností

§ Při práci se nesmí dotýkat prsty nitrocelulóзовého pásku!

§ Při manipulaci se vzorky je vhodné používat rukavice.

§ Reagencie z balení různých šarží se nesmí nikdy zaměňovat!

§ Dvě slabé zelené linky na stripech označují místa absorpce protilátek.

§ Pokud je extrakční pufr kontaminován bakteriemi nebo plísněmi, je nutno jej zlikvidovat.

§ Kvalita diagnostika nemůže být zaručena po uplynutí expirační doby nebo při nedodržení skladovacích podmínek.

## V. LIKVIDACE POUŽITÉHO MATERIÁLU

§ Likvidace veškerého materiálu použitého při práci musí být provedena podle SLP.

§ Každý uživatel je zodpovědný za provedení veškeré likvidace, která musí splňovat aktuální legislativu dané problematiky

## VI. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Neotevřené balení Clostridium K-SeT se skladuje při 4 – 30°C.

Doba použitelnosti je vyznačena na štítku obalu.

Neotevřené diagnostikum zůstane stabilní při teplotě 4 – 30°C po celou dobu použitelnosti.

Dlouhodobá teplotní stabilita je zaručena firmou Coris BioConcept.

Clostridium K-SeT diagnostikum (kazety, pufr, FSS) nesmí zmraznout!

## VII. POSTUP PRÁCE

Příprava:

Pokud se vzorky uchovávají při teplotě 4°C je třeba je před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.

Vyšetřované vzorky je třeba řádně popsat.

Vzorky stolice musí být vyšetřeny co nejdříve po doručení.

Jinak je nezbytné je uchovávat při teplotě 2 – 8 °C po 1 týden, po delší dobu při -20 °C.

Vzorky se nesmějí upravovat roztoky obsahující formaldehyd nebo jeho deriváty.

Jestliže je Clostridium K-Set uchováván při 4 °C, je nutné veškeré reagentie před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.

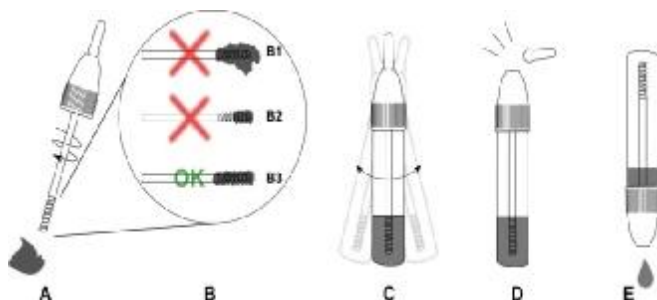
Po otevření obalu, vyjmout kazetu a položit na rovnou, suchou plochu. Test musí být proveden v co nejkratším čase po otevření.

Každou kazetu označit jménem pacienta či číslem vzorku. Na každý vzorek použít jednu kazetu.

#### Provedení s FSS (K-1520)

- Po otevření FSS zkumavky odebrat spirálou přibližně 80 mg stolice. Zředění může být maximálně 4%. U tekutých vzorků pipetou přenést 80 µl do FSS.
- Vložit spirálu do FSS a utáhnout víčko. Třepáním řádně zhomogenizovat.
- Ulomit konec víčka a ve vertikální poloze nanést 4 kapky rozpuštěného vzorku na okénko pro vzorek na testovací kazetě.
- Reakce proběhne během 15 minut po nanesení vzorku. Výsledek se objeví v okénku pro odečet.

**Výsledek musí být odečítán z ještě vlhkého stripu.**



#### Provedení (K-1220)

- Do každé zkumavky se dá 0,5 ml nebo 15 kapek rozpouštědla.
- Výtěrka obsahující vzorek se ponoří do zkumavky. Poměr rozpouštědla a vzorku má být maximálně 4 %, což odpovídá 2 x 10 µl (2 kličky) pro tekuté vzorky, 1 x 10 µl (1 klička) pro tuhé vzorky.
- Vzorek se zhomogenizuje třepáním a nechá se 1-2 minuty stát.
- Pomalou naneste 100µl rozpuštěného vzorku do jamky pro vzorek na diagnostické kazetě.
- Reakce proběhne během 15 minut od nanesení vzorku. Výsledek se objeví v okénku pro odečet.

**Výsledek musí být odečítán z ještě vlhkého stripu.**

### VIII. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky jsou interpretovány následovně:

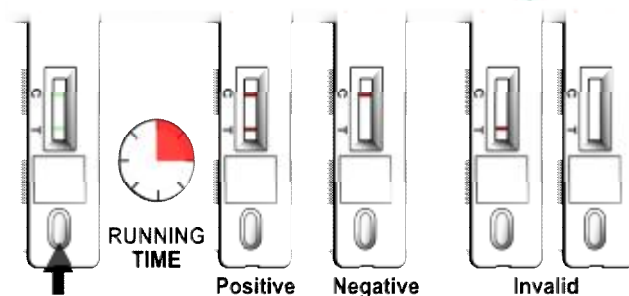
**1 linka (horní) = negativní**

**1.linka (spodní) = nelze hodnotit**

**2 linky = pozitivní – clostridium**

**0 linka = nelze hodnotit\***

\*Absence kontrolní linky (horní linka) - výsledek je neplatný. Test je nutno opakovat.



**DELIVER  
SAMPLE**

**READ**

Intenzita testovacích linek je závislá na kvantitě antigenních struktur ve vzorku. I slabá intenzita na testovacích linkách odpovídá pozitivnímu výsledku vyšetření. Nicméně test je pouze kvalitativní a nemůže být použit pro kvantitativní stanovení antigenů ve vzorku.

Různá intenzita kontrolní linky je akceptovatelná.

Při vysychání se může objevit zašednutí testovacích linek. Není doporučeno vyschlá diagnostika hodnotit jako pozitivní.

### IX. KONTROLA KVALITY

Kontrola kvality testů se doporučuje provádět v souladu s SLP. Pro test používat negativní kontrolu jako tekutý vzorek stolice.

### X. ÚČINNOST

#### A. Senzitivita a Specificita

1.Porovnání bylo provedeno na 318 vzorcích lidské stolice. Výsledky byly srovnávány s konvenční metodou kultivace v Národní referenční laboratoři v Belgii.

Culture	Positive	Negative	Total
<b>Coris BioConcept</b>			
<b>Positive</b>	75	17	92
<b>Negative</b>	0	226	226
<b>Total</b>	75	243	318

Senzitivita: 100%

Specificita: 93%

PPV: 81,5%

NPV: 100%

Shoda: 94,7% (301/318)

2. Diagnostikum bylo validováno ve srovnání s EIA na 65 vzorcích lidské stolice. Výsledky byly následující:

EIA competitor	Positive	Negative	Total
<b>Coris BioConcept</b>			
<b>Positive</b>	41	0	41
<b>Negative</b>	1	23	24
<b>Total</b>	42	23	65

Senzitivita: 97,6%

Specificita: 100%

PPV: 100%

NPV: 95,8%

Shoda: 98,5% (64/65)

## B. Přesnost

### Přesnost v rámci šarže:

Jeden adenovirus a rotavirus pozitivní vzorek byl testován 15 x jednou šarží Combi-Strip.

Paralelně s pozitivním vzorkem bylo testováno i pufrované rozpouštědlo.

Výsledky byly ve 100% shodné.

Všech 15 testů adenovirus a rotavirus pozitivního vzorku bylo pozitivních.

Všech 15 testů pufrovaného rozpouštědla bylo negativních.

### Přesnost mezi šaržemi:

Jeden adenovirus a rotavirus pozitivní vzorek byl testován 3x devíti různými šaržemi Combi-Strip.

Paralelně s pozitivním vzorkem bylo testováno i pufrované rozpouštědlo.

Výsledky byly ve 100% správné.

U všech šesti šarží vyšly adenovirus a rotavirus pozitivní vzorky v ředění 1:64 pozitivně a pufrované rozpouštědlo negativně.

## C. Zkřížená reaktivita

Byla provedena kontrola zkřížené reaktivity pozitivních vzorků k následujícím patogenům:

*Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii*, *Legionella lonbeachae*, *Legionella pneumophila* (sg1), *Moraxella catarrhantis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria meningitidis* (sg B & C), *Neisseria sicca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus mutans*, *Staphylococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Ureaplasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (type 1,3,9)

Veškeré výsledky byly negativní.

## D. Detekční limit

Detekční limit byl stanovován s ředěnými čištěnými GDH preparáty a byl ověřen na detekci proteinů při koncentraci 1ng/ml.

## XI. LIMITY KITU

Výsledky testu musí být srovnávány se všemi dostupnými klinickými a laboratorními informacemi.

Pozitivní výsledek testu nezaručuje, že nejsou přítomny jiné patogeny.

Clostridium K-SeT je screeningový test, který se používá při akutní fázi onemocnění. Vzorky stolic, které jsou odebrané po této fázi, mohou obsahovat titry antigenů pod prahem citlivosti diagnostika.

## XII. TECHNICKÉ PROBLÉMY / STÍŽNOSTI

Jestliže se setkáte s technickým problémem, nebo účinnost diagnostika nebude korespondovat s údaji, které jsou uvedeny v tomto článku:






- 1) Při dotazu vždy uveďte číslo šarže
- 2) Je-li to nezbytné, uchovejte problematický vzorek zmrzlý jak dlouho bude třeba.

3) Kontaktujte vašeho distributora nebo Coris BioConcept.

## Aktualizace: I/2013

**Dodává:** Josef Bártl – DIOXO  
Sídliště 24/136  
165 03 Praha 6 – Suchdol  
tel., fax: 220 920 656, 220 921 873  
e-mail: [dioxo@dioxo.cz](mailto:dioxo@dioxo.cz)

**Výrobce:** Coris BioConcept  
Rue Jean Sonet, 4 A  
B – 5032 Gembloux-Belgie  
Tel: +32(0)81719917  
e-mail: [coris.bc@skynet.be](mailto:coris.bc@skynet.be)  
<http://www.corisbio.com>

REF	Catalogue number	Manufactured by	
IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Contains sufficient for <n> tests	DIL SPE	Diluent specimen
	Consult instructions for use		Do not reuse
	Keep dry		Use by
DIL AS	Diluent assay	CONT Na <sub>3</sub>	Contains Sodium azide