

Test rapid Ag GDH *C. difficile*

Număr de catalog: RAPG-CDG-001

DESCRIERE KIT DE TEST

Testul rapid Biopanda *C. difficile* GDH Ag detectează calitativ prezența antigenului glutamat dehidrogenază (GDH), al *Clostridium difficile* în materiile fecale. Acest test aplică imunocromatografia cu flux lateral și este destinat utilizării profesionale pentru diagnostic *in vitro*.

SUMAR

Clostridium difficile este o bacterie anaerobă care acționează ca agent patogen oportunist; crescând în intestin când flora normală a fost modificată prin tratamentul cu antibiotice.^{1,2,3} Tulpinile toxicogene ale *Clostridium difficile* provoacă infecții de la diaree ușoară până la colită pseudo-membranoasă, care ar putea cauza decese.⁴ Boala este cauzată de două toxine produse de tulpini toxicogene de *C. difficile*: Toxina A (enterotoxina ce provoacă deteriorarea țesutului) și toxina B (ctotoxina). Unele tulpini produc atât toxina A cât și B, altele produc numai Toxină B. Rolul potențial al unei a treia toxine (binare) în patogenitate este încă dezbătut.⁴

Utilizarea glutamat dehidrogenazei (GDH) ca marker antigenic al proliferației *C. difficile* s-a dovedit a fi foarte eficientă, deoarece toate tulpinile produc o cantitate mare din această enzimă.^{5,6} Testul rapid Biopanda Ag GDH *C. difficile* permite detectarea specifică a GDH *C. difficile* în specimene de scaun. Probele cu un rezultat pozitiv ar trebui investigate în continuare pentru a se testa toxigenitatea bacteriilor.

PRINCIPIU

Acest test se bazează pe utilizarea tehnologiei membranare cu aur coloidal. O membrană de nitroceluloză este sensibilizată cu anticorpi direcționați împotriva antigenului *C. difficile* (GDH). Specificitatea testului este asigurată de un anticorp specific *C. difficile* GDH care este conjugat cu aurul coloidal. Proba de fecale trebuie să fie diluată în tampon de extracție, care este furnizat împreună cu testul. Când suspensia fecală intră în contact cu banda, conjugatul solubilizat migrează cu eșantionul prin difuzie pasivă, iar conjugatul și materialul eșantionului intră în contact cu anticorpii anti-*Clostridium* adsorbit pe nitroceluloză. În cazul în care eșantionul conține GDH *C. difficile*, complexul conjugat-antigen va rămâne legat de reactivul anti-GDH *C. difficile* și se va dezvolta o linie de culoare roșie. Soluția continuă să migreze pentru a întâlni un al doilea reactiv care leagă conjugatul de control al migrării, producând astfel o linie de control roșie care confirmă faptul că testul funcționează corect. Rezultatul este vizibil în 15 minute.

CONTINUTUL KITULUI

- 10 x casete infoliate, cu desicant.
- 10 x dispozitiv de colectare a specimenelor de fecale care conține tampon
- 1 x prospect produs

DEPOZITARE ȘI STABILITATE

Păstrați kiturile între 2-30°C și asigurați-vă că nu sunt congelate sau depozitate în lumina directă a soarelui. Testul este valabil până la data de expirare imprimată pe folia de ambalaj.

PRECAUTII

Urmați aceste instrucțiuni pentru cele mai bune rezultate:

- Toate operațiunile legate de utilizarea testului trebuie să fie efectuate în conformitate cu bunele practici de laborator (BPL).
- Toți reactivii se utilizează doar pentru diagnosticarea *in vitro*.
- Evitați atingerea membranei de nitroceluloză (zona casetei de testare) cu degetele.
- Purtați mănuși atunci când manipulați probe.

- Nu utilizați reactivi de la un alt kit.
- Liniile verzi indică situările de adsorbție ale imunoreactivilor. Culoarea verde dispare în timpul testului.
- Calitatea reactivilor nu poate fi garantată după datele de expirare sau în cazul în care reactivii nu sunt depozitați în condițiile cerute, așa cum se indică în prospect.
- Aruncați mănușile, tamponurile, eprubetele și dispozitivele utilizate în conformitate cu BPL.
- Fiecare utilizator este responsabil cu gestionarea deșeurilor orice produs, și trebuie să se asigure că acesta este aruncat în conformitate cu legislația în vigoare.

RECOLTAREA ȘI PREGĂTIREA PROBELOR

1. Pentru a procesa probele fecale:

• Pentru probe solide:

Deșurubați capacul tubului de colectare a probei, apoi **înțepați aleatoriu dispozitivul de colectare a probei în specimenul de fecale în cel puțin 3 locuri diferite** pentru a colecta aproximativ **60 mg de materii fecale** (echivalentul a 1/4 dintr-un bob de mazăre). Nu luați o cantitate mare de fecale.

• Pentru exemplarele lichide:

Țineți pipeta vertical, aspirați probele de fecale și apoi transferați 2 picături (aproximativ 60 μl) în tubul de colectare care conține tamponul de extracție.

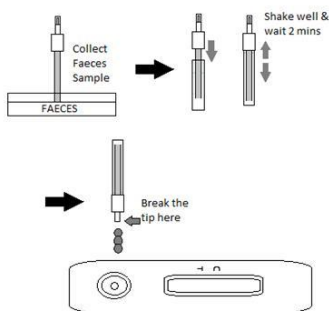
Înșurubați și strângeți capacul pe tubul de colectare a specimenului, **apoi agitați viguros tubul de colectare** pentru a amesteca proba și tamponul de diluare. Lăsați tubul de colectare să stea timp de 2 minute. Specimenele de scaun trebuie să fie testate cât mai curând posibil după colectare. Dacă este necesar, acestea pot fi depozitate la 2-8° C timp de 1 săptămână sau - 20 ° C pentru perioade mai lungi de timp.

Asigurați-vă că speciemenele nu sunt tratate cu soluții care conțin formaldehidă sau derivatele acesteia.

PROCEDURA DE TESTARE

Testul, specimenul și tamponul de colectare a scaunului trebuie lăstate să se echilibreze la temperatura camerei (15-30°C) înainte de testare.

1. Scoateți caseta de testare din pungă sigilată și folosiți-o cât mai curând posibil. Cele mai bune rezultate vor fi obținute în cazul în care testul se efectuează imediat după deschiderea pungii sigilate.
2. Țineți tubul de colectare a specimenului în poziție verticală și **deșurubați capacul** tubului de colectare. Se inversează tubul de colectare a probei și **se transferă 3 picături complete de specimen extras** (aproximativ 120 μl) la fiecare godeu de proba(S) al casetei de testare, apoi se pornește cronometrul. Evitați să prindeți bule de aer în godeul specimenului (S). Consultați ilustrația de mai jos.
3. Citiți rezultatele la 15 minute după distribuirea specimenului. Nu interpretați rezultatul după 20 de minute.
4. **NOTĂ:** Dacă specimenul nu migrează (datorită prezenței particulelor), centrifugați proba diluată conținută în flaconul de tampon de extracție. Se colectează 80 μl de supernatant, se distribuie în fiecare godeu (S) dintr-o nouă casetă de testare și se testează din nou, urmând instrucțiunile menționate mai sus.



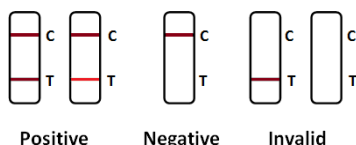
REZULTATELE TESTELOR

Rezultate pozitive: Apar două linii. O linie colorată trebuie să fie în regiunea de control (C) și o altă linie colorată trebuie să fie în regiunea de testare (T).

NOTĂ: Intensitatea culorii în linia de test regiune (T) va varia în funcție de concentrația de antigen GDH *Clostridium difficile* prezent în probă. Prin urmare, orice nuanță de culoare în regiunea de test (T) ar trebui să fie considerată pozitivă.

Rezultate negative: O linie colorată apare în regiunea de control (C). Nicio linie colorată aparentă nu apare în regiunea de test (T).

Rezultate invalide: Linia de control nu apare.



LIMITĂRI

1. Testul rapid Biopanda Ag GDH *C. difficile* este calitativ și nu poate prezice cantitatea de antigene prezente în eșantion. Pentru stabilirea diagnosticului trebuie luate în considerare prezentarea clinică și rezultatele altor teste.
2. Un test pozitiv nu exclude posibilitatea ca alți patogeni să fie prezenți.

STUDII DE VALIDARE

LIMITA DE DETECȚIE

Limita de detecție a fost evaluată prin diluarea unui preparat de GDH purificat, iar rezultatele arată că concentrația de proteină detectată este de 1ng/ml.

Sensibilitate-Specificitate

O evaluare a fost efectuată pe 318 probe de scaun uman. Rezultatele au fost comparate cu cele obținute printr-o metodă convențională de cultură într-un laborator clinic.

Metodă	Cultură		Rezultate totale	
	Rezultate	Pozitiv		Negativ
Test rapid Biopanda Ag GDH <i>Clostridium difficile</i>	Pozitiv	75	17	92
	Negativ	0	226	226
Rezultate totale		75	243	318

Sensibilitatea relativă: >99.9% (95%CI:*93.9%-100%)
Specificitatea relativă: 93.0% (95%CI:*88.8%-95.7%)
Precizie: 94.7% (95%CI:*91.6%-96.9%)

*Intervale de încredere

Repetabilitate și reproductibilitate

Pentru a verifica acuratețea intra-lot (repetabilitate), aceleași probe pozitive și o soluție tampon au fost procesate de 15 ori pe kituri din același lot de producție în aceleași condiții experimentale. Toate rezultatele observate au fost confirmate, cum era de așteptat, pentru a verifica corectitudinea acurateții intra-lot (reproductibilitate), unele probe (pozitive și tampon) au fost prelucrate pe seturi din trei loturi diferite de producție. Toate rezultatele au fost confirmate, cum era de așteptat.

Interferențe:

Reactivitatea încrucișată la probele pozitive pentru următorii agenți patogeni a fost testată și s-a constatat că este negativă: *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella lonbeachae*, *Legionella pneumophila* (sg1), *Moraxella catarrhalis*, *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 aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (Gr B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Urea plasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (type 1, 3, 9).

REFERINȚE

Ramadass Baiaumurugan, 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. Tull: *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. și 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

Vă mulțumim pentru achiziționarea kitului de testare rapidă Biopanda Ag GDH *C. difficile* Vă rugăm să citiți acest manual cu atenție înainte de utilizare pentru a asigura utilizarea corectă.

Biopanda Reagents Ltd.

Unit 14 Carrowreagh Business Park
Carrowreagh Road Belfast, BT16
1QQ United Kingdom Tel: +44 (0)
28 95438774 Fax: + 44 (0) 28
90486696 E-mail: info@bio-
panda.co.uk Website: www.bio-
panda.co.uk

(Actualizat 24.05.17)