

SIMPLE GDH / STICK GDH

POUZE PRO ODBORNÉ POUŽITÍ

TYTO POKYNY JE TŘEBA PŘEČÍST POZORNĚ PŘED
PROVÁDĚNÍM TESTU

ÚVOD

• **Použití**

Jednostupňový imunochromatografický test pro pomoc při diagnostice gastrointestinální infekce způsobené *Clostridium difficile* pomocí kvalitativní detekce glutamátdehydrogenázy (GDH) z *Clostridium difficile* ve vzorcích lidské stolice.

Výsledky získané pomocí Simple/Stick GDH by měl vyhodnotit lékař v kombinaci s dalšími dostupnými klinickými informacemi od pacienta. Neměly by být používány jako jediné kritérium pro diagnostiku infekce.

Test je kvalitativní a jeho provádění není automatizované, i když interpretaci výsledků lze provést vizuálně nebo pomocí čtečky proužků.

Tento test je určen výhradně pro diagnostické použití in vitro.

Tento test je určen pro profesionální použití. Toto není diagnostický test pro použití v místě péče o pacienta. Toto není autodiagnostický test.

• **Obecná informace**

Test je založen na imunologické vazbě barevných mikročástic, které procházejí membránou s imobilizovanými specifickými monoklonálními protilátkami proti GDH z *C. difficile*.

Pozitivní signál v testu indikuje přítomnost *C. difficile* ve vzorku stolice. Následná analýza vzorku testem na detekci toxinů *C. difficile* (jako je test OPERON 2A-Bdiff) potvrzuje, zda je kmen toxigenní, a tedy patogenní a způsobující onemocnění.

• **Testovaná populace**

Infekce *C. difficile* může postihnout všechny typy lidí bez ohledu na věk, pohlaví nebo životní styl, takže a priori není vyloučena žádná část populace náchylná k analýze tímto testem.

V těch lékařských střediscích, kde je výskyt nozokomiálních nálezů vyšší, by mělo být používání tohoto testu podporováno, protože *C. difficile* je hlavním agens souvisejícím s infekcemi získanými během pobytu v nemocnici. Stejně tak by měl být hodnocen každý vzorek průjmu, který pochází od jedinců léčených antibiotiky

• **Výskyt onemocnění**

C. difficile může být přítomna asymptomaticky až u 5 % zdravé populace¹. Tato míra nosičství se může v důsledku hospitalizace zvýšit až na 30 %. Kromě toho je *C. difficile* považována za odpovědnou za přibližně 25 % průjmů

spojených s užíváním antibiotik a je jedním z hlavních patogenů souvisejících s nozokomiálními infekcemi². Incidence celosvětově osciluje mezi počtem 1,1 až 631,8 na každých 100 000 osob ročně. Kromě toho existují jasné důkazy pro recidivu onemocnění, která se u případů s infekcí *C. difficile* pohybuje kolem 15–35%³.

• **Charakteristika *C. difficile* a její infekce**

Clostridium difficile je sporotvorná grampozitivní anaerobní bakterie.

Kromě průjmových příznaků může onemocnění vést k pseudomembranózní kolitidě, která vyžaduje urgentní léčbu antibiotiky účinnými proti *C. difficile* (metronidazol, vankomycin), protože může být ohrožen život pacienta. Úmrtnost spojená s infekcí *C. difficile* může být mezi 6 % a 30 %, zvláště pokud pacient trpí pseudomembranózní kolitidou.

C. difficile uvolňuje dva vysokomolekulární toxiny⁴, toxin A a toxin B, které jsou hlavními virulentními faktory odpovědnými za klinické projevy onemocnění způsobeného infekcí *C. difficile*.

Glutamátdehydrogenáza (GDH) je enzym produkovaný ve velkém množství toxigenními a netoxigenními kmeny *C. difficile*, což z něj činí vynikající marker pro stanovení přítomnosti tohoto mikroorganismu⁵.

Společnost pro zdravotnickou epidemiologii v Americe (SHEA), Společnost pro infekční onemocnění v Americe (IDSA) a Evropská společnost klinické mikrobiologie a infekčních onemocnění (ESCMID) doporučují použití dvou-krokového protokolu pro identifikaci toxigenních *C. difficile*⁶ zahrnující vstupní skríníng vzorku pomocí GDH a pro pozitivní výsledky následný test toxinů *C. difficile*, neboť ne všechny kmeny je produkují. OPERON nabízí možnost postupovat podle tohoto protokolu doporučeného vůdčími zdravotnickými společnostmi. za použití souprav GDH a 2A-Bdiff.

ZÁKLADNÍ PRINCIP TESTU

GDH test používá kombinaci:

1) červených latexových částic konjugovaných se specifickými protilátkami proti GDH z *C. difficile* které kooperují s jinými specifickými protilátkami anti-GDH navázanými na testovací membráně pod kontrolní linií

2) modré latexové částice konjugované antigenem jsou rozpoznány specifickými protilátkami pro tento antigen na membráně, to je kontrolní linie

V tomto testu je napřed ze vzorku pomocí dilučního (ředícího) pufru vzorku (součástí soupravy) extrahována GDH z fekálního matrixu. Po extrakci je určité množství supernatantu přidáno k reakčnímu stripu.

Když extrahovaný vzorek prochází testovací membránou, barevné částice migrují. V případě pozitivního vzorku specifické protilátky přítomné v membráně zachytí barevné, antigenem coatované částice.

Různé barevné linie (modrá pro kontrolu a červená pro test) budou viditelné v závislosti na obsahu GDH ve

vzorku. Tyto linie jsou použity pro interpretaci výsledku po inkubaci při pokojové teplotě 10 minut (viz část Odečítání výsledků).

FORMÁT TESTU

Test GDH je dostupný ve dvou formátech:

- Stick formát: proužky jsou baleny jednotlivě v aluminiovém sáčku nebo dodávány v 25-kusové plastové zkumavce. Další testovací zkumavka (nebo 96-jamková mikrotitrační destička s plochým dnem) je potřeba pro uchování extrahovaného vzorku a průběh testu

- Simple formát: reaktivní proužek je uvnitř plastové kazety. Extrakty jsou přidány přímo do okénka pro vzorek, které je označené šipkou.

Oba formáty jsou založeny na stejném principu, přestože jsou některé rozdíly v pracovním postupu (viz odpovídající POSTUPY)

Tento návod k použití je určen pro všechny komerční soupravy s katalogovým číslem: 9.045.XXX.YY.ZZZ

MATERIÁL OBSAŽENÝ V SOUPRAVĚ

Stick formát:

- Reakční proužky
- Diluent Vzorku
- Jednorázové neodstupňované plastové pipetky (žluté)
- Dřevěné aplikátory pro přenos pevného vzorku stolice
- Jednorázové odměrné plastové pipety*.
- 1,5 ml mikrozukavky s víčkem
- Testovací zkumavky
- Stojánky pro držení předchozích testovacích zkumavek ve svislé poloze
- Návod k použití

Simple format:

- Reakční proužky
- Diluent Vzorku
- Jednorázová nedělená plastická pipetka (žlutá)
- Dřevěné aplikátory pro přenos pevného vzorku stolice
- 1,5 ml mikrozukavky s víčkem
- Návod k použití
- Datamatrix (v závislosti na komerční referenci pro interpretaci výsledků odečítacím přístrojem).

Informace o složení reagentů jsou uvedeny v bezpečnostním listu produktu. O kopii bezpečnostního listu můžete požádat prostřednictvím e-mailové adresy msds@operon.es

MATERIÁL NEDODÁVANÝ V SOUPRAVĚ

- Centrifuga pro 1,5 ml mikrozukavky
- Vortex.
- Časovač.

Uživatel může objednat kontroly k ověření získaných výsledků. Tyto kontroly lze objednat nezávisle a mají vlastní objednávací číslo.

VYBAVENÍ PRO INTERPRETACI VÝSLEDKŮ

Test je možné odečítat vizuálně nebo pomocí přístroje OPERON Lateral Flow Reader.

U této diagnózy existuje důkaz 97,6% shody mezi vizuální interpretací a čtečkou proužků OPERON IC strip reader.

OPERON Lateral Flow Reader



IUL, S.A.

Carrer de la Ciutat d'Asunción, 4

08030 Barcelona, ESPAÑA

Katalogové číslo: 9.901.001.90.000

UPOZORNĚNÍ

1. Se vzorky pacientů je třeba nakládat jako s potenciálně infekčním materiálem. Je třeba používat jednorázové ochranné rukavice během celého pracovního postupu

2. Diluent vzorku obsahuje azid sodný 0,095% jako antimikrobiální agens. Zabraňte přímému kontaktu s kůží a sliznicemi. Likvidujte odpovídajícím způsobem.

V případě že pufr jeví znaky kontaminace nebo precipitace, nepoužívejte jej.

Pufry pro ředění vzorků obsahují materiál živočišného původu (albuminy). Všechny materiály živočišného původu jsou komerční reference a mají certifikát, který dokazuje, že nejsou infekční.

3. V místech, kde se pracuje s reagenty a vzorky, nejzte, nepijte, nekuřte a nepřipravujte a neskladujte jídlo.

4. Poté co byl úkol zpracován, očistěte pracovní plochy mýdlem a vodou a zakončete odpovídající dezinfekcí. Nakonec sundejte rukavice a umyjte ruce mýdlem a vodou.

5. Nezaměňujte komponenty mezi soupravami s rozdílným číslem šarže.

6. Pokud je souprava skladována v chladu, před použitím vytemperujte reagenty i vzorky; chladné reagenty a vzorky mohou zhoršit kvalitu výsledku. Pro vytemperování na pokojovou teplotu stačí obvykle 20-30 minut.

7. Všechny reagenty jsou určeny výhradně in vitro.

8. Imunochromatografické stripy jsou na jedno použití. Pro každý vzorek, který má být hodnocen, se používá strip.

9. Nepoužívejte soupravy po expiraci.

10. V případě poškození vnějšího obalu je možné použít výrobek pokud nedošlo k poškození jednotlivých součástí.

11. V případě poškození nebo změny primárního obalu test zlikvidujte.

12. Primární hliníkový obal stripu otevřete ve chvíli, kdy je test připraven, aby nedošlo ke zbytečné expozici stripu vnějším faktorům prostředí, které by mohly jít proti testu.

13. Při použití SIMPLE formátu je důležité přidat přesný objem extrahovaného vzorku do reakční jamky. Pokud je objem menší, Imunochromatografie nemusí

proběhnout pro malý objem vzorku, který se nedostane k reakční zóně; naopak, pokud je objem příliš velký, nadbytečný objem se může rozlít uvnitř prostředku a chromatografie neproběhne správně.

14. Jakmile je strip použit, je vhodné manipulovat s ním jako se vzorkem. Se stripy je třeba manipulovat s náležitou opatrností jako s biologicky nebezpečným materiálem.

15. Všechny výrobky jsou pro jedno použití a měly by být likvidovány v souladu s aktuální legislativou.

16. Nepoužívejte test, pokud se objeví jakákoliv barevná linie před prováděním testu.

17. Je důležité odebrat správné množství vzorku: ca **75 mg** pevného vzorku (kulička o průměru 4 mm) nebo **75 µl** tekutého nebo polotekutého vzorku. (**3 kapky** neodstupňovanou jednorázovou pipetkou- žlutou); Tato množství jsou extrahována v 1 ml diluentu vzorku v soupravě. Při odběru většího množství vzorku stačí dodržet poměr 75 mg (nebo 75 µl) vzorku v 1 ml ředidla vzorku.

Přebytek vzorku vzhledem k množství přidaného pufru brání správnému provedení chromatografie, což je zvláště kritické v případě pevných vzorků, protože není tak jednoduché odebrat vhodné množství vzorku.

18. Pro zajištění adekvátní chromatografie je velmi důležité odstředit 1,5 ml mikrozkušavky před extrakcí specifického množství supernatantu. Správné výsledky nelze zaručit, pokud se pevné částice nechají usadit a ne odstředí. To platí zejména v případě pevných vzorků stolice, protože větší počet suspendovaných částic může interferovat s chromatografií.

19. Dokud jste nespotřebovali celou soupravu, nelikvidujte vnější obal. Obsahuje důležité informace o CE značení a notifikaci.

20. Jakýkoliv závažný incident vztahující se k výrobku musí být hlášen výrobcí kompetentní autoritě členského státu ve kterém je uživatel a /nebo pacient zaveden.

SKLADOVÁNÍ

Výrobek může být skladován při +2-30 °C.

Datum expirace je vytištěno na zkumavce nebo aluminiovém obalu.

Reagenční proužky musí být použity po otevření ochranného obalu po dosažení pokojové teploty (pokud jsou skladovány v chladničce).

Výrobek si po otevření zachovává požadovanou stabilitu.

VZORKY

▪ Tato souprava je určena pro testování vzorků čerstvé lidské stolice.

▪ Netestujte vzorky odebraná do jakéhokoliv transportního nebo obohaceného media/ jsou přidávány konzervační agens (formalin, SAF, PVA apod.), neboť mohou interferovat s testem.

▪ Doporučuje se použití čerstvých neošetřených vzorků. Pokud je třeba je nějakou dobu uchovávat, lze je uchovávat v chladničce (+2-8°C) po dobu 3 nebo 4 dnů. Pro delší skladování by měly být zmrazeny na -20°C, protože některé vzorky ztrácejí po zmrazení

imunoreaktivitu.

▪ Zaměřte pozornost na analýzu hemoragických vzorků; pokud je vysoká koncentrace krve, může vzniknout problém nespecificity. Jak indikátor nespecificity může sloužit i změna barvy modré kontrolní linie (má tendenci vykazovat purpurovou nebo netypicky velice tmavě modrou barvu) nebo objevení se další nedefinované linie.

▪ Zmrazená vzorky nechte před analýzou plně rozmraznout a vytemperovat na pokojovou teplotu.

▪ Zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků stolice z důvodu degradace antigenu.

▪ Před prováděním testu musí být vzorky homogenizovány.

PŘÍPRAVA VZORKU ZE STOLICE

Obecné poznámky: Během provádění testu je třeba používat všechny ochranné laboratorní prostředky z důvodu práce s infekčním materiálem. Po ukončení práce ukliděte pracovní prostor podle bodu 4 odstavce „UPOZORNĚNÍ“.

Pro všechny formáty platí následující příprava vzorku stolice (Simple a Stick):

1. Pro kapalné nebo polo-kapalné vzorky přidejte **75µl** vzorku do 1,5 ml označené mikrozkušavky. Při použití neodstupňované jednorázové žluté pipetky přidejte **3 kapky** vzorku.

Pokud je vzorek pevný, přeneste ca **75 mg** pevného vzorku (kulička o průměru 3 mm) pomocí dřevěného aplikátoru do 1,5 ml mikrozkušavky.

Důležité: Ujistěte se, že vzorek je homogenní odběrem ze tří různých oblastí, aby se získal co nejrepresentativnější vzorek

2. Přidejte **1 ml** diluentu vzorku (nebo množství úměrné k 75 µl/mg vzorku na 1 ml diluentu vzorku) do výše zmíněné mikrozkušavky se vzorkem.

3. Vortexujte ca 30s nebo tak, aby byl vzorek zcela suspendován v pufru. Pokud není Vortex k dispozici dobře protřepajte rukou až do úplného roztřepání vzorku v pufru.

4. Centrifugujte 1,5 ml mikrozkušavku 5 min při 700xg (ca 3000rpm) v malé centrifuze pro mikrozkušavky, aby došlo k usazení pevných částic. Pokud není centrifuga k dispozici, počkejte 3-5 min až se pevné mikročástice usadí na dně zkumavky. Optimálních výsledků ovšem dosáhnete při použití čirého roztoku vzorku po centrifugaci.

SIMPLE GDH POSTUP

Po přípravě vzorku pod výše uvedeného postupu pokračujte následovně:

1. Vyjměte reakční kazetku s aluminiového obalu – Odvlhčovací sáček vyhodte; pouze chrání proužek před vlhkostí.

2. Pomocí nové jednorázové žluté pipety přidejte 5-6 kapek (125 µl) vzorku supernatantu na testovanou plochu (kulaté okénko označené šipkou).

3. Po 10 minutách odečítejte výsledek.(obrázek 1).

STICK GDH POSTUP

Po přípravě vzorku pod výše uvedeného postupu pokračujte následovně:

1. Vyjměte reakční strip s aluminiového obalu nebo ze zásobní zkumavky (poté dobře znovu zavřete pro ochranu před vlhkostí).
2. Pokud používáte zkumavky ze soupravy, vložte zkumavku do stojánku ze soupravy **265 µl** čistého supernatantu (čtvrtá značka na stupňované jednorázové pipetě) a přeneste do testovací zkumavky
3. Pokud používáte 96-jamkovou mikrotitrační destičku s plochým dnem, přeneste **150 µl** čistého supernatantu (třetí značka na stupňované jednorázové pipetě) a přeneste do testovací jamky
4. Vložte strip do testovací zkumavky (ve stojánku) nebo do jamky mikrotitrační destičky šipkou směřující dolů.
5. Inkubujte **10 minut** a poté odečítejte výsledky. (obrázek1).

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Stripy zobrazené na obrázku 1 jsou příkladem různých výsledků, které lze získat pomocí Simple/Stick GDH testu. Lze rozlišit 2 různé barevné linie:

Horní (modrá) linie: je kontrolní linie indikující správné provedení testu

Dolní (červená) linie: označuje přítomnost GDH ve vzorku.

Modrá kontrolní linie by se měla objevit vždy. Další přítomnost červené čáry indikuje přítomnost GDH ve vzorku.

Strip 1: NEGATIVNÍ výsledek.

Objeví se pouze jedna příčná **MODRÁ** linie (v SIMPLE formátu označená písmenem „C“ na plastové kazetce nebo krytu) To je kontrolní linie, která by se měla objevit vždy a indikuje správné provedení chromatografie.

Strip 2: POZITIVNÍ výsledek

Objeví se **MODRÁ** vodorovná linie a **ČERVENÁ** linie (u Simple formátu je označená písmenem „T“ na krytu) Intenzita linie je závislá na koncentraci analytu ve vzorku.

Strip 3: NEVALIDNÍ výsledek

Neobjeví se kontrolní linie, **MODRÁ** barva kontrolní linie je zřetelně odlišná nebo nespecifické barvy (jiné než červená) na pozitivní linii. Jakákoliv jiná kombinace barev než vyznačených, znamená abnormální funkci testu. To může být způsobeno následujícími příčinami:

- Jedna nebo více reagentů mohlo být zkaženo nebo test proexpiroval.
- Vzorek nebyl dobře připravený dle pokynů
- Vzorek obsahuje vysoké množství krve

V případě nevalidního výsledku se doporučuje použít jiný test, u kterého bude striktně dodrženy protokol popsany v manuálu.

V případě vzorku s krví pokud problém přetrvává se doporučuje použít alternativní testovací metodu, neboť důvodem je spíše matrix než použitý strip.

Jakákoliv linie, která se objeví později (než po 10 min.) nemá diagnostický význam.

POZN: závěrečná a definitivní diagnóza by měla být stanovena klinickým lékařem. Tento test pouze detekuje GDH *C. difficile* ve vzorku. Nezaručuje, že pacient trpí infekcí *C. Difficile*.



Test lze odečítat vizuálně nebo pomocí čtečky OPERON Lateral Flow Reader. K interpretaci testu pomocí čtečky je k dispozici rychlý průvodce na následujícím webu: <https://operondx.com/operon-lateral-flow-reader/>
Důležité: před vložením testu do čtečky se ujistěte, že ve výsledkovém okně nejsou žádné prachové částice, vlákna atd., protože by mohly rušit čtení.

KONTROLA KVALITY

Test je neplatný, pokud se neobjeví žádná modrá čára, ať už proto, že test nebyl proveden správně nebo došlo ke zhoršení reagentie. Pokud k tomu dojde, opakujte analýzu a pečlivě dodržujte pracovní protokol uvedený v těchto pokynech.

VAROVÁNÍ: Doporučujeme zahrnout naše kontroly se známým výsledkem abyste ověřili správnost získaných dat.

OMEZENÍ

1. Test Simple/ Stick GDH je určen jako pomoc při diagnostice gastrointestinálních infekcí způsobených *C. difficile* pomocí detekce přítomnosti Glutamát dehydrogenázy (GDH) v lidské stolici pro detekci proteinu rovných nebo vyšších než je detekční limit testu. Použití jiných vzorku nebylo ověřeno.

2. Test je kvalitativní, ne kvantitativní; intenzita pozitivní linie není vázána na množství GDH ve vzorku stolice

3. Test ukazuje dobrou korelaci s ostatními metodami (ELISA a rychlé testy) při analyzování velkého počtu

testů. Nicméně tyto studie nevylučují potenciální interference ve výkonu testu při analýze jiných fekálních vzorků.

4. Je důležité kontrolovat reakční čas.. Pokud je reakční doba kratší, než je uvedeno, vzorky obsahující koncentraci analytu výrazně vyšší, než je limit citlivosti, lze jasně vidět, ale ty, které jsou na limitu, se nezobrazí. Pokud je reakční doba delší, než je uvedeno, citlivost testu bude ovlivněna a může vést k nesprávným interpretacím.

5. Defekt ve množství vzorku může vést k velice slabým pozitivním výsledkům. V tomto případě doporučujeme přetestovat s větším množstvím vzorku s doporučenými poměry dávek vzorku diluentu. Větší množství vzorku může způsobit pomalý vývoj nebo chybnou funkci testu. (není viditelná kontrolní linie) V tomto případě je třeba test opakovat s menším množstvím vzorku (viz. „Příprava vzorku stolice“).

6. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce *C.difficile*. Může se stát, že koncentrace antigenu ve vzorku je pod mezí detekce nebo mohou být ve stolici substance vážící antigen nebo inaktivační enzymy.

7. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce *C.difficile*. Může se stát, že koncentrace antigenu ve vzorku je pod mezí detekce nebo mohou být ve stolici substance vážící antigen nebo inaktivační enzymy.

8. Výsledky testů by měly být interpretovány společně s dostupnými údaji z epidemiologických studií, klinického hodnocení pacienta a dalších diagnostických postupů.

9. Byl upozorováno, že některé vzorky stolice s vysokým obsahem krve negativně interferují s možnými nespecifickými problémy u vzorků negativních *C.difficile*. Tato nestabilita je zpravidla doprovázena změnami barvy kontrolní linie; místo světle modré se objeví tmavě modrá až fialová (viz odstavec „Odečítání výsledků“).

10. Bylo popsáno osídlení *C.difficile* u více než 50% dětí. Vysoké procento bylo také popsáno u pacientů s cystickou fibrózou. Obvykle tyto skupiny pacientů zůstávají asymptomatické a nevyžadují specifickou léčbu. Tyto pozitivní výsledky nemají klinický význam. Mělo by se s nimi zacházet s ohledem na pacienta a nevyžadují léčbu infekce *C.difficile*.

11. GDH skrining jako první krok detekce toxigenního *C.difficile* má omezení senzitivity popsané v různých pracích^{7, 8}, kde byl výskyt falešně negativních výsledků až 5%.

12. Provedení testu nebylo stanoveno k ověření účinnosti eradikace (testu vyléčení).

DETEKČNÍ SCHOPNOST

Byl použit čistý přípravek nativní glutamátdehydrogenázy získaný ze supernatantu kultury *C.difficile* od tgcBiomics. Test Simple/Stick GDH, interpretovaný vizuálně a pomocí čtečky OPERON Lateral Flow Reader, dosahuje detekční kapacity 1,5 ng/ml.

ANALYTICKÁ SPECIFICITA

Monoklonální protilátky použité v testu GDH nabízejí jedinečnou specificitu pro detekci glutamát dehydrogenázy (GDH) z *C. difficile* bez očekávaných zkřížených reakcí s jinými antigeny a/ nebo mikroorganismy přítomnými ve vzorcích stolice, které by mohly být detekovány. Viz odstavec zkřížené reaktivity.

DIAGNOSTICKÁ SENZITIVITA A SPECIFICITA

A.- Interní hodnocení OPERON.

Bylo provedeno srovnání mezi rychlým testem OPERON, S.A. a ELISA C. DIFF CHEK™-60 společnosti Techlab. Studie zahrnovala celkem 334 vzorků, z nichž 105 bylo pozitivních a 229 negativních metodou ELISA.

Výsledky získané vizuální interpretací testu byly následující:

GDH		ELISA C.DIFF CHEK™ -60	
		Pos	Neg
Simple/Stick GDH	Pos	103	0
	Neg	2	229

Shoda Sensitivity = $103/(103+2)*100 = 98.1\%$
Shoda Specificity = $229/(0+229)*100 > 99.9\%$

B.- Externí hodnocení

Srovnání mezi rychlým testem OPERON, S.A. a rychlým testem C. DIFF QUIK CHEK® společnosti Techlab bylo provedeno v nemocnici v Barceloně. Studie zahrnovala celkem 115 vzorků, z nichž 42 bylo pozitivních a 73 negativních rychlým testem Techlab.

Výsledky získané vizuální interpretací testu byly následující:

GDH		C.DIFF QUIK CHEK®	
		Pos	Neg
Simple/Stick GDH	Pos	42	3
	Neg	0	70

Shoda Sensitivity = $42/(42+0)*100 > 99.9\%$
Shoda Specificity = $70/(70+3)*100 = 95.9\%$

3 nesouhlasné vzorky byly znovu analyzovány anaerobní kulturou *C.difficile*, která ověřila, že dva z falešně pozitivních testů OPERON jsou ve skutečnosti pozitivní vzorky.

OPAKOVATELNOST

PŘESNOST UVNITŘ TESTU

Pět replikátů ze série 1/2 ředění charakterizovaného vnitřního standardu bylo analyzováno vizuálně a pomocí OPERON Lateral Flow Reader. Měření byla provedena pomocí 1 šarže produktu Simple/Stick GDH ve stejný den stejnou osobou. Byla získána 100% opakovatelnost, což ukazuje na vysokou přesnost testu v rámci testu.

REPRODUKOVATELNOST

PŘESNOST MEZI DNY (INTER DAY PRECISION)

Za použití stejné šarže testu Simple/Stick GDH byla vizuálně měřena křivka ředění standardu po dobu pěti dnů s časovým odstupem. Výsledky byly velmi reprodukovatelné, protože byly pozorovány rozdíly menší než 1/2 ředění, přijatelné a tolerovatelné pro test.

PŘESNOST MEZI OPERÁTORY (INTER OPERATOR PRECISION)

Pět osob měřilo vizuálně křivku ředění standardu v duplikátech. V žádném případě nebyly pozorovány rozdíly větší než jedno 1/2 ředění, což je pro danou techniku přijatelné a tolerovatelné.

PŘESNOST MEZI ŠARŽEMI (INTER BATCH PRECISION)

Za použití čtyř šarží testu Simple/Stick GDH byla vizuálně změřena křivka ředění standardu ve dvojitým provedení.

Analýza byla provedena jednou osobou ve stejný den. Bylo pozorováno, že rozdíly jsou rovné jednomu 1/2 ředění, což je pro danou techniku přijatelné a tolerovatelné.

HOOK EFFECT

Existují důkazy, že test Simple/Stick GDH nevykazuje Hookův efekt při hodnocení zvyšujících se koncentrací standardu až do 4 000 ng/ml.

INTERFERUJÍCÍ SUBSTANCE

Následující látky neovlivnily vizuální výsledky testu, když byly přidány do vzorků stolice (pozitivní a negativní) v koncentracích uvedených v následující tabulce:

Racecadotril	5% (w/v)	Ibuprofen	20% (w/v)
Cimetidine	10% (w/v)	Acetylsalicylic acid	30% (w/v)
Loperamide	5% (w/v)	Edulcorant	5% (w/v)
Metronidazole	5% (w/v)	Palmitic Acid	40% (w/v)
Omeprazole	3% (w/v)	Barium Sulfate	5% (w/v)
Ampicillin	15% (w/v)	Mucin	5% (w/v)
Human blood	20% (v/v)		

CROSS-REAKTIVITA S OSTATNÍMI MIKROORGANISMY

Tato studie byla prováděna na dvou různých místech s vizuální interpretací výsledků:

A.- OPERON

GDH test byl hodnocen proti výrazně pozitivním vzorkům následujících mikroorganismů bez problémů s cross-reaktivitou:

Adenovirus – Rotavirus – Norovirus – Astrovirus – *Helicobacter pylori* – *Campylobacter jejuni* – *Escherichia coli* O157 – *Entamoeba histolytica* – *Giardia lamblia* – *Cryptosporidium parvum*.

B.- NEMOCNICE BELLVITGE (Barcelona, España)

GDH test, byl hodnocen proti různým mikroorganismům vyskytujícím se v gastrointestinálním traktu v dostatečně vysokých koncentracích. Test byl prováděn na bakteriálních suspenzích o koncentracích 10⁸ cfu/ml. GDH test nevykazoval zkříženou reaktivitu s žádným z mikroorganismů uvrzených níže:

Aeromonas hydrophila, *Bacillus pumillus*, *Campylobacter jejuni*, *Candida albicans*, *Citrobacter koseri*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium sordellii*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* 1, *Escherichia coli* 2, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexnerii*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*.

MODIFIKACE OPROTI PŘEDCHOZÍ VERZI DOKUMENTU:

Struktura obecných informací poskytovaných na začátku pokynů je vylepšena a obsahuje jednotlivé body, aby byly v souladu s požadavky nařízení IVDR.

Komponenty stavebnice jsou lépe rozepsané.

Pokud jde o výkonnostní parametry testu, byly změněny následující části: "Upozornění", "Vzorky", "Příprava vzorku", "Omezení postupu", "Detekční schopnost", "Analytická specifita", "Diagnostická senzitivita a specifita", "Opakovatelnost", "Reprodukovatelnost", "Hook efekt", dříve "Hook efekt nebo prozónální", "Interferující látky" a "Cross-reaktivita"

ODKAZY - LITERATURA

1. Rupnik M, Dupuy B, Fairweather NF, Gerding DN, Johnson S, Just I, Lyster DM, Popoff MR, Rood JI, Sonenshein AL, Thelestam M, Wren BW, Wilkins TD and von Eichel-Streiber C. *Revised nomenclature of Clostridium difficile toxins and associated genes*. J Med Microbiol. Feb 2005, Vol: 54(Pt 2) pp: 113-117.
2. Vonberg RP, Reichardt C, Behnke M, Schwab F, Zindler S and Gastmeier P. *Costs of nosocomial Clostridium difficile associated diarrhoea*. J Hosp Infect. Sep 2008, Vol: 70(1) pp:15-20.
3. Finn E, Andersson FL and Madin-Warburton M. *Burden of Clostridioides difficile infection (CDI) – a systematic review of the epidemiology of primary and recurrent CDI*. BMC Infectious Diseases 2021, Vol: 21 pp: 456.
4. Kuehne SA, Cartman ST, Heap JT, Kelly ML, Cockayne A and Minton NP. *The role of toxin A and toxin B in Clostridium difficile infection*. Nature. Oct 2010, Vol: 467(7316) pp: 711-713.
5. Shetty N, Wren MW, Coen PG. *The role of glutamate dehydrogenase for the detection of Clostridium difficile in*

faecal samples: a meta-analysis. J Hosp Infect. Jan 2011. 77 (1) pp: 1-6.

6. Cohen SH, Gerding DN, Johnson S, Kelly CP, Loo VG, McDonald LC, Pepin J, Wilcox MH; Society for Healthcare Epidemiology of America; Infectious Diseases Society of America. *Clinical practice guidelines for Clostridium difficile infection in adults: 2010 update by the society for healthcare epidemiology of America (SHEA) and the infectious diseases society of America (IDSA).* Infect. Control Hosp. Epidemiol. May 2010; Vol 31 (5) pp: 431-55.

7. Wilcox MH, Planche T, Fang FC and Gilligan P. *What is the current role of algorithmic approaches for diagnosis of Clostridium difficile infection.* J Clin Microbiol. Dec 2010; Vol 48 (12) pp: 4347-53

8. Wren MW, Sivapalan M, Kinson R and Shetty NR. *Laboratory diagnosis of clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory.* Br J Biomed Sci. 2009; Vol 66(1) pp:1-5.



Použití, DATUM EXPIRACE



Číslo šarže



Pro jedno použití



Tento výrobek splňuje podmínky Direktivy 98/79/EC pro in vitro diagnostické zdravotnické prostředky



Katalogové číslo



Podívejte se na pokyny pro používání



Výrobce



Obsah vhodný pro <n> testů



Pozor



Pouze pro jedno použití



Omezení teploty



Prostředek není určen pro testování v blízkosti pacienta



Prostředek není určeno pro sebetestování

Tento dokument je také dostupný na našich webových stránkách

www.operondx.com



DO-0905131 Rev. 05 (20.10.2023)



OPERON, S.A.. - Camino del Plano, 19 -E-50410 Cuarte de Huerva - (Zaragoza) – ESPAÑA

+ 34 976 503597