

SIMPLE GDH-Toxins

Jednokrokový imunochromatografický test pro diferenciální detekci glutamátdehydrogenázy (GDH) a toxinu A a toxinu B z *C. difficile* v lidské stolici

POUZE PRO ODBORNÉ POUŽITÍ TYTO POKYNY JE TŘEBA POZORNĚ PŘEČÍST PŘED PROVÁDĚNÍM TESTU

POUŽITÍ:

Chromatografická imunoanalýza OPERON GDH-Toxins je postup pro kvalitativní detekci glutamát dehydrogenázy (GDH) a toxinů A a B *C. difficile* z lidské stolice na oddělených liniích stripu. Pozitivní signál na stripu GDH indikuje přítomnost bakterií *Clostridium difficile* ve stolici. Analýzou vzorku na stripu Toxiny se detekuje jak toxin A, tak toxin B z *C. difficile* a potvrdí se, zda se jedná o toxigenní patogenní kmen, který způsobuje onemocnění. Test je založen na imunologickém zachycení barevných mikročástic při průchodu membránou, na níž se nacházejí specifické monoklonální protilátky proti GDH toxinu A a toxinu B, které byly imobilizovány ve třech oddělených pozitivních liniích.

ÚVOD:

Clostridium difficile je gram-pozitivní sporulující anaerobní bakterie, která může být přítomná asymptomaticky až v 5 % zdravé populace¹. Tento poměr může stoupnout až na 30% z důvodu hospitalizace, léčby antibiotiky, vůči kterým je bakterie rezistentní. Proto je *C. difficile* považován za příčinu asi 25 % průjmů spojených s léčbou antibiotiky², včetně clindamycinu a, druhé a třetí generace cefalosporinů, inhibitorů gyrázy, ampicilinu, amoxicilinu atd. K příznakům průjmu se navíc přidává pseudomembránová kolitida (PMC), kterou je třeba urgentně léčit antibiotiky, účinnými proti *C. difficile* (metronidazol, vancomycin), neboť je ohrožen život pacienta. Mortalita způsobená CDI může být mezi 6 až 30 %, zvláště pokud pacient trpí PMC.

C. difficile uvolňuje dva vysokomolekulární toxiny, toxin A a toxin B, které jsou hlavními faktory virulence způsobujícími klinické příznaky onemocnění CDI. Glutamát-dehydrogenáza (GDH) je enzym produkovaný ve zvýšeném množství toxigenními i netoxigenními kmeny *C. difficile*, tudíž slouží jako výborný marker přítomnosti tohoto mikroorganismu⁴. 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*⁵; zahrnující vstupní skrínink 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 nebo GDH-Toxins.

ZÁKLADNÍ PRINCIP TESTU

Souprava GDH-Toxins obsahuje dva stripy v jedné dvojité kazetce:

1. GDH strip používá kombinaci:

a) Červených latexových částic konjugovaných se specifickými protilátkami proti GDH z *C. difficile* které reagují s jinými specifickými protilátkami anti-GDH, navázanými na testovací membráně pod kontrolní linií.

b) Modré latexové částice konjugované antigenem jsou rozpoznány specifickými protilátkami pro tento antigen na membráně a slouží jako kontrolní linie.

2) Toxinový strip používá kombinaci:

a) Červených latexových částic konjugovaných se specifickými protilátkami proti toxinu A z *C. difficile* které reagují s jinými specifickými protilátkami pro toxin A, navázanými na testovací membráně pod kontrolní linií.

b) Červených latexových částic, konjugovaných se specifickými protilátkami proti toxinu B z *C. difficile* které reagují s jinými specifickými protilátkami pro toxin B, navázanými na testovací membráně nad kontrolní linií

c) Modré latexové částice konjugované antigenem jsou rozpoznány specifickými protilátkami pro tento antigen na membráně a slouží jako kontrolní linie.

V tomto testu jsou napřed ze vzorku pomocí dilučního (ředícího) pufru vzorku (součást soupravy) extrahovány antigeny z fekálního matrixu. Po extrakci je určité množství supernatantu přidáno k oběma reakčním stripům a čeká se 15 minut.

Když extrahovaný vzorek prochází testovací membránou, barevné částice migrují. V případě pozitivního vzorku specifické protilátky přítomné v membráně zachytí barevné, antigenem coatované částice. Tyto linie jsou použity pro interpretaci výsledku po inkubaci při pokojové teplotě po 15 minutách (viz část Odečítání výsledků).

MATERIÁL OBSAŽENÝ V SOUPRAVĚ

- Reakční prostředek: dva reakční stripy jsou umístěny ve dvojité plastové kazetce.
- Lahviky s dilučním pufrem vzorku : počet lahviček odpovídá počtu reakčních prostředků.
- Jednorázové nedělené plastové pipetky

 BIOSIGMA S.r.l

Via Valenta 6 - Zona Ina. Cantarana
30010 – Cona (VE) Italy

MATERIÁL NEDODÁVANÝ V SOUPRAVĚ

- Vortex
- Minutka / Časovač

UPOZORNĚNÍ

1. Se vzorky pacientů (stolice) je třeba nakládat jako s potenciálně infekčním materiálem. Je třeba používat všechny ochranné pomůcky (jednorázové ochranné rukavice, ochranné brýle, laboratorní plášť atd.).

2. Diluent vzorku obsahuje azid sodný jako antimikrobiální agens. Zabraňte přímému kontaktu s kůží a sliznicemi. Likvidujte odpovídajícím způsobem. V případě že pufr jeví znaky kontaminace nebo precipitace, nepoužívejte jej.

3. V místech, kde se pracuje s reagensy a vzorky, nejezte, nepijte, nekuřte, nepřipravujte ani neskladujte jídlo.

4. Poté co práce skončila, odstraňte rukavice a hned dezinfikujte ruce alkoholovým dezinfekčním činidlem. Poté umyjte ruce mýdlem. Prostor, kde bylo prováděno testování ošetřete dekontaminačním roztokem ničícím spory, neboť spory *C. difficile* nejsou ničeny alkoholem.

5. Nezaměňujte komponenty mezi soupravami s rozdílným číslem šarže.

6. Před použitím vytemperujte reagenty a vzorky; chladné reagenty a vzorky mohou zhoršit kvalitu testu. Pro vytemperování na pokojovou teplotu stačí obvykle 20-30 minut.

7. Souprava je pouze pro použití in vitro.

8. Nepoužívejte soupravy po expiraci.

9. Pokud je vnější obal poškozený, je možné použít test, není-li poškozen obal jednotlivých komponent.

10. 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. Pokud je objem příliš velký, můžou se objevit hnědé místo červené nebo modré (viz obr. 1 a 2).

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

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

13. Je důležité odebrat správné množství vzorku: ca 110 mg pevného vzorku (kulička o průměru 5 mm) nebo 110 μ l tekutého nebo polotekutého vzorku (4 kapky, pokud se použije jednorázová pipeta ze soupravy). Tato množství jsou extrahována v diluentu vzorku v soupravě.

Nadbytek vzorku vzhledem k diluentu vzorku brání reakci, aby proběhla správně, to je zvláště kritické u pevných vzorků, kde je obtížné odhadnout vhodné množství.

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

SKLADOVÁNÍ

Souprava GDH-Toxins může být skladována při 2-30 °C. Datum expirace je vytištěno na zkumavce nebo na aluminiovém obalu.

VZORKY

• Tato souprava je určena pro testování vzorků lidské stolice.

• Netestujte vzorky odebrané do jakéhokoliv transportního nebo obohaceného media; jsou přidávány konzervační agens (formalin, SAF, PVA apod.), která mohou interferovat s testem.

• Doporučujeme analyzovat čerstvé, nezpracované stolice. Je-li třeba, vzorky mohou být skladovány v lednici při (+2-+8 °C) maximálně 1-2 dny. Pro delší skladování je třeba zmrazit na -20 °C. Mějte ovšem na zřeteli, že některé vzorky po zmražení ztratí reaktivitu.

• Věnujte zvláštní pozornost analýze hemoragických vzorků; pokud je vysoká koncentrace krve, může být důvodem nespecifity reakce. Jako indikátor nespecifity může sloužit i změna typické modré barvy kontrolní linie.

• Zmražené vzorky nechte před analýzou plně rozmraznout a vytemperovat na pokojovou teplotu. Zabraňte opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorku z důvodu imunologické změny analytu.

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 uklidte pracovní prostor podle bodu 4 v odstavci „Upozornění“.

Protokol pro přípravu vzorků stolice je následující:

1. Nejprve vzorek homogenizujte, abyste získali co nejrepresentativnější alikvotní část.

2. Opatrně odšroubujte uzávěr z lahvičky, aby nedošlo k rozlítí pufru pro ředění vzorku. **U pevných vzorků** odeberte tyčinkou připevněnou k uzávěru lahvičky přibližné množství 110 mg stolice (malá část o průměru 5 mm). Pokud **je vzorek polotekutý** (nelze jej odebrat pipetou), odeberte takové množství vzorku, aby pokrylo drážky tyčinky připevněné k uzávěru lahvičky. **U kapalných vzorků odeberte** objem 110 μ l, (4 kapky, pokud jsou použity jednorázové pipety, které jsou součástí soupravy).

3. Opatrně přidejte vzorek do lahvičky obsahující ředicí pufr. Dobře zašroubujte uzávěr a silně protřepejte, abyste zajistili homogenní směs.

POSTUP

1. Vyjměte reakční kazetku z aluminiového obalu. Odvlhčovací sáček vyhoďte; pouze chrání proužek před vlhkostí.

2. Rozlomte špičku kryti lahvičky.

3. Otočte lahvičku a přidejte **4 kapky** do obou oblastí

aplikace vzorku (čtvercové okénko označené šipkou).

4. Po 15 minutách odečítejte výsledek.

ODEČÍTÁNÍ VÝSLEDKŮ:

Pět obrázků na obr. 1 představuje různé výsledky, které je možné získat.

Na každém stripu se objeví různě zbarvené linie.

Mohou se objevit 3 různé linie vymezené černou vodorovnou linií na obou stranách kazetky.

GDH strip (na levé straně kazetky):

a) Červená linie: linie je pozitivní. Indikuje přítomnost GDH *C. difficile* ve vzorku.

b) Modrá linie: kontrolní linie se musí na proužku objevit vždy. Indikuje správné provedení testu.

Toxins strip (na pravé straně kazetky):

a) Dolní červená linie: indikuje přítomnost toxinu A vzorku *C. difficile*.

b) Horní červená linie: indikuje přítomnost toxinu B vzorku *C. Difficile*. TcdB pozitivní vzorek.

c) Modrá linie: kontrolní linie, která indikuje správné provádění testu.

Modrá (kontrolní) linie by se měla na stripu objevit vždy. Další červená linie na stripu indikuje přítomnost GDH a/ nebo toxinu A nebo B v analyzované stolici.

Obr. 1 ukazuje možné výsledky.

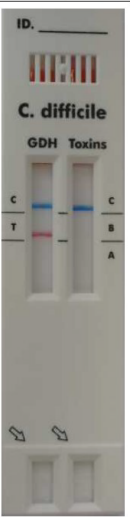
Strip 1	Strip 2	Strip 3	Strip 4	Strip 5
				
GDH - Toxins -	GDH + Toxins -	GDH + Tox A +	GDH + Tox B +	invalid test

Fig. 1: Patterns of possible results

* **Strip 1:** NEGATIVNÍ výsledek.

Objeví se pouze jedna **MODRÁ** vodorovná linie na každém stripu označená písmenem „C“ na kazetce. To je kontrolní linie a musí se objevit vždy jako indikátor správného průběhu reakce.

* **Stripy 2-4:** POZITIVNÍ výsledek.

- **Strip 2:** GDH pozitivní + Toxiny negativní

Na stripu GDH (levá strana kazetky) se objeví **MODRÁ** vodorovná linie na písmenem „C“ na kazetce pod ní **ČERVENÁ** označená písmenem „T“ na kazetce. Na stripu Toxins (pravá strana kazetky) se objeví **MODRÁ** vodorovná linie označená písmenem „C“ na kazetce

- **Strip 3:** GDH pozitivní + Toxin A pozitivní

Na stripu GDH (levá strana kazetky)se objeví **MODRÁ** vodorovná linie na písmenem „C“ na kazetce pod ní **ČERVENÁ** označená písmenem „T“ na kazetce. Na stripu Toxins (pravá strana kazetky) se objeví **MODRÁ** vodorovná linie označená písmenem „C“ na kazetce a **ČERVENÁ** označená písmenem „A“ na kazetce

- **Strip 4:** GDH pozitivní + Toxin B pozitivní

Na stripu GDH (levá strana kazetky)se objeví **MODRÁ** vodorovná linie na písmenem „C“ na kazetce pod ní **ČERVENÁ** označená písmenem „T“ na kazetce. Na stripu Toxins (pravá strana kazetky) se objeví **MODRÁ** vodorovná linie označená písmenem „C“ na kazetce a **ČERVENÁ** označená písmenem „B“ na kazetce

* **Strip 5:** NEVALIDNÍ výsledek

Neobjeví se modrá vodorovná kontrolní linie, modrá barva kontrolní linie je zřetelně odlišná nebo jsou nespecifické barvy pozitivních linií. To znamená abnormální funkci testu, které 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 budou striktně dodrženy protokol popsany v manuálu. V případě vzorku s krví, pokud problém přetrvává, se doporučuje použít alternativní testovací metodu, neboť důvodem je spíše matrice než použitý strip. Ostatní komerčně dodávané soupravy pro rychlé restování dávají pro tyto vzorky s krví podobné výsledky.

Jakákoliv linie, která se objeví později než po 15 min. nemá diagnostický význam.

POZNÁMKA: závěrečný definitivní diagnóza by měla být stanovena klinickým lékařem. Tento test pouze detekuje přítomnost *C. difficile* ve vzorku (toxigenní nebo netoxigenní). Nezaručuje, že pacient trpí v důsledku infekce *C. difficile*.

OMEZENÍ TESTŮ

1. Test GDH-Toxins analyzuje vzorky lidské stolice. Použití jiných vzorků nebylo ověřeno.

2. Test je kvalitativní ne kvantitativní; přestože intenzita pozitivní linie odpovídá množství toxinu ve vzorku stolice.

3. Po analýze vysokého počtu vzorků stolice test vykazuje dobrou korelaci s jinými metodami (kultivace, cytotoxicita a ELISA). Nicméně tato studie nevyklučuje možné interference v provádění testu u jiných vzorků stolice.

4. Malé množství vzorku může vést k velice slabým pozitivním výsledkům. V tomto případě doporučujeme přetestovat s větším množstvím vzorku s doporučenými porcemi dávek vzorku diluentu (viz. „Příprava vzorku“). Nadbytek vzorku může signifikantně zpomalit vývoj stripu nebo způsobit chybnou funkci testu (není viditelná kontrolní linie). V tomto případě je třeba test opakovat s menším množstvím vzorku. To je důležité zejména u pevného vzorku stolice (viz odstavec "Příprava vzorku").

5. Negativní výsledek nevyklučuje zcela možnost infekce *C. difficile* (CDI). Výsledek testu musí být interpretován vzhledem ke klinickému obrazu pacienta. Navíc je třeba si uvědomit, že toxiny jsou nestabilní a lze je snadno degradovat třeba špatným skladováním vzorku nebo přítomností inhibitorů. Tak se může stát, že je koncentrace antigenu ve vzorku pod mezí detekce (viz „Analytická senzitivita“).

6. Pozitivní výsledek z pevné stolice by měl být interpretován velice opatrně. Principiálně je průjem hlavním symptomem onemocnění *C. difficile* (CDI), což vylučuje pevnou stolicí. Osoba provádějící test by o této skutečnosti měla informovat ošetřujícího lékaře. To v kombinaci se anamnézou pacienta umožňuje lékaři stanovit správnou diagnózu.

7. Byl zjištěn určitý stupeň zkřížené reakce se vzorky stolice silně pozitivními na přítomnost *Entamoeba histolytica*. Při testování izolovaného parazita (bez přítomnosti matrix – stolice) byla reakce negativní. Ostatní dostupné testy ELISA i rychlé, které jsou na trhu, vykazují pro tyto vzorky podobné výsledky.

8. Je pozorováno, že některé vzorky stolice s vysokým obsahem krve negativně interferují s testem. V těchto případech se mohou projevit problémy specifity u vzorků negativních *C. difficile*. Tato destabilizace testu je zpravidla doprovázena změnami barvy kontrolní linie; místo světle modré se objeví tmavě modrá až fialová (viz odstavec „Odečítání výsledků“).

9. 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*.

10. Některé publikace^{6, 7}, uvádějí, že existuje až 5 % kmenů *C.difficile*, které jsou toxigenní, ale jsou negativní na přítomnost glutamátdehydrogenázy.

11. Výsledky tohoto testu by měly být interpretovány společně s veškerými dostupnými informacemi o epidemiologických studiích, o klinickém hodnocení pacienta a o dalších diagnostických postupech.

ANALYTICKÁ SENZITIVITA

- **GDH-strip:** Ke stanovení citlivosti GDH testu byl použit dva přípravky glutamátdehydrogenázy *C.difficile* (nativní a rekombinantní). Oběma preparáty byla získána průměrná hodnota 0,8 ng/ml.

- **Toxins-strip:** Za účelem stanovení analytické senzitivity 2A-Bdiff soupravy byly použity toxiny A a B z tgc BIOMiCs při

různém ředění v diluentu vzorku. Mnohé vyráběné šarže detekují koncentraci 0,75 ng/ml obou toxinů.

Je také důležité zmínit, že detekční limit obou testů byl také analyzován pomocí reálných vzorků stolice. Hodnoty byly konzistentní z výsledky vnitřních standardů. To potvrzuje robustnost testu.

DIAGNOSTICKÁ SENZITIVITA A SPECIFICITA

Test GDH-Toxins byl hodnocen proti následujícím vzorkům:

- 102 negativních vzorků pro GDH.
- 101 Negativních vzorků na toxiny A a B.
- 40 Pozitivních vzorků pro GDH.
- 37 Pozitivních vzorků na toxiny A a B.

Referenční metodou byla komerční souprava ELISA pro GDH. Komerční souprava ELISA byla také použita jako reference v případě proužku 2A-Bdiff. Pro konfirmaci pozitivních vzorků byla použita i metoda určení cytotoxicity.

Získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce:

	SENZITIVITA	SPECIFICITA
GDH	95.0%	99.0%
2A-B diff (toxins)	94.6%	>99.9%

OPAKOVATELNOST

- **Strip GDH:** pět replikátů tří koncentrací stanovených jako PC ("pozitivní kontrola"), LPC ("nízká pozitivní kontrola") a NC ("negativní kontrola") bylo měřeno ve stejný den stejnou osobou. S těmito třemi kritickými koncentracemi bylo dosaženo 100% opakovatelnosti.

- **Toxins-strip:** pět replikátů tří koncentrací stanovených jako PC, LPC a NC pro každý analyt detekovaný tímto proužkem (toxin A a toxin B) bylo měřeno ve stejný den stejnou osobou. S těmito třemi kritickými koncentracemi bylo dosaženo 100% opakovatelnosti.

REPRODUKOVATELNOST

• SPOLEHLIVOST MEZI DNY:

Použitím jedné šarže testu GDH-Toxins byla měřena křivka citlivosti pro každý analyt během čtyř dnů s časovým odstupem. Byla získána stejná citlivost pro GDH a oba toxiny A i B.

• SPOLEHLIVOST MEZI OPERÁTORY:

Pět pracovníků měřilo duplicitně křivku citlivosti pro každý analyt. Byly pozorovány rozdíly, ale v žádném případě nepřesáhly 1 dvojnásobné ředění.

• SPOLEHLIVOST MEZI ŠARŽEMI

K měření křivky citlivosti v duplikátech byly použity tři různé šarže testu GDH-toxinů. Analýza byla provedena jednou osobou ve stejný den. Byly oceněny rozdíly zředovacího faktoru 2, které jsou pro tento test přijatelné a tolerovatelné.

Rozdíly nalezené v různých částech odstavce „Reprodukovatelnost“ jsou akceptovatelné

pro kvalitativní imunochromatografický test s inherentní variabilitou spojenou s touto metodou.

PROZONOVÝ NEBO HOOKŮV EFEKT

Velmi vysoké koncentrace tří analytů detekovaných testem GDH-Toxins byly testovány bez pozorování jakéhokoli poklesu intenzity pozitivních signálů. Tyto hodnoty koncentrací (vyšší než maximální hodnoty, které lze u populace nalézt) byly následující:

- **GDH:** 4000 ng/ml, asi 1000 násobek jeho detekčního limitu.

- **Toxin A:** 5000 ng/ml, asi 400 násobek jeho detekčního limitu.

- **Toxin B:** 5000 ng/ml, asi 1500 násobek jeho detekčního limitu.

INTERFERUJÍCÍ SUBSTANCE

V následující tabulce jsou uvedeny substance s jejich koncentracemi, které neovlivnily výsledky testu po přidání ke stolici (negativní a pozitivní).

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

CROSS-REAKTIVITA S OSTATNÍMI MIKROORGANISMY

Test GDH-Toxins byl hodnocen proti různým mikroorganismům, které mohou být přítomny ve střevním traktu kdykoli v dostatečně vysokých koncentracích. Jeho studie byla provedena na dvou různých místech:

* OPERON:

Test byl hodnocen proti silně pozitivním vzorkům pro tyto mikroorganismy:

Adenovirus, Rotavirus, Norovirus, Astrovirus, Helicobacter pylori, Entamoeba histolytica, Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum.

U silně pozitivních vzorků na *Entamoeba histolytica* byl pozorován určitý stupeň zkřížené reakce (viz bod 7 v části „Omezení postupu“).

* NÁRODNÍ NEMOCNIČNÍ CENTRUM (Španělsko)

Měření byla provedena na bakteriálních suspenzích při koncentraci 10⁸ cfu/ml. Test GDH-Toxins neprokázal žádnou zkříženou reaktivitu s žádným z níže uvedených mikroorganismů:

Aeromonas caviae, Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus spp, Bacteroides nordii, Campylobacter jejuni,

Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium cadaveris, Clostridium perfringens, Clostridium sordellii, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli 1, Escherichia coli 2, Klebsiella pneumoniae, Lactobacillus gossleri, Listeria monocitogenes, Plesiomonas shigelloides, 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.

ODKAZY:

1. Rupnik M, Dupuy B, Fairweather NF, Gerding DN, Johnson S, Just I, Lyerly 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. 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.

4. 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. 2011. Jan 77 (1): 1-6.

5. 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. 2010. May; 31 (5): 431-55.


6. 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. 2010 Dec; 48 (12): 4347-53

7. 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;66(1):1-5.

-  Expirace
-  Číslo šarže
-  Pouze pro in vitro použití
-  Tento výrobek splňuje podmínky Direktivy 98/79/EC pro in vitro diagnostické zdravotnické prostředky.
-  Katalogové číslo
-  Přečtěte pokyny pro používání
-  Výrobce
-  Obsah stačí pro <n> testů
-  Pozor
-  Skladujte při



DO-0905144 Rev.02 20-06-2018

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