Zał. nr 1 do odp. na pyt. -1

NADAL® Lactoferrin (test kasetowy)

Szybki test do jakościowego wykrywania ludzkiej laktoferyny w ludzkim kale
Testy tylko do użytku in-vitro.
Nr produktu: 1200001

1. ZASTOSOWANIE

NADAL® Lactoferrin jest szybkim immunochromatograficznym testem do jakościowego wykrywania ludzkiej laktoferyny w próbce kału, która może powodować zapalenie jelita grubego w nieswoistym zapaleniu jelit.

2. WPROWADZENIE

Laktoferyna (Lf) to glikoproteina produkowana przez neurofile, jednojądrzaste fagocyty oraz komórki nabłonkowe, która zawarta jest w płynach wydzielniczych takich jak ślina czy mleko matki. Laktoferyna blokuje rozwój bakterii poprzez ograniczenie dostępności żelaza. Efekt ten jest dodatkowo wzmocniony przez obecność swoistych przeciwciał IgA skierowanych przeciwko bakteriom. Co więcej, Lf ma działanie bakteriobójcze i we współpracy z lizozymami skutkuje bezpośrednim uszkodzeniem błony komórkowej. Gdy stan zapalny rozwija się w przewodzie pokarmowym, neutrofile i komórki fagocytarne migrują do ogniska zapalnego i uwalniają granulki zawierające Lf. Laktoferyna utrzymuje się w kale na stałym poziomie i jest łatwa do wykrycia za pomocą metod immunochemicznych.
Marker ten jest podwyższony u pacjentów z chorobą zapalną jelit. Nieswoiste choroby zapalne jelit, w tym wrzodziejące zapalenie jelit oraz choroba Leśniowskiego-Crohna, reprezentują grupę chorób charakteryzujących się samoistnym i przewlekłym zapaleniem atakującym przewód pokarmowy. Dzieci i dorośli pacjenci z zapaleniem jelit mogą przejawiać różnorakie, nieswoiste objawy kliniczne (w tym ból brzucha oraz biegunkę).
Test NADAL® Lactoferrin jest nieinwazyjnym badaniem używanym do rozróżnienia pacjentów z zapalną chorobą jelit (inwazyjna choroba bakteryjna, nieswoista choroba zapalna jelit) od pacjentów cierpiących na niezapalne choroby żołądkowo-jelitowe (wirusowe, toksykologiczne).

3. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test NADAL® Lactoferrin jest immunochromatograficznym testem do jakościowego wykrywania laktoferyny w próbce ludzkiego kału. W obszarze testowym membrana pokryta jest przeciwciałami przeciwko ludzkiej laktoferynie.
Podczas testu próbka reaguje z barwnym koniugatem (mikrokulkami opłaszczonymi zabarwionymi na czerwono przeciwciałami przeciwko ludzkiej laktoferynie) utrwalonym na pasku testowym. Następnie kompleks przemieszcza się ku górze po membranie za sprawą sił kapilarnych. Podczas gdy próbka przemieszcza się wzdłuż membrany, wraz z nią migrują barwne cząstki. W przypadku pozytywnego wyniku swoiste przeciwciała obecne na membranie wiążą barwny koniugat. Uwidocznienie się kolorowej linii zależne jest od stężenia laktoferyny w próbce. Linia ta służy do interpretacji wyniku testu.
Roztwór przemieszcza się dalej wzdłuż membrany, aż do związanych w obszarze linii kontrolnej (C) przeciwciał. Czerwona linia kontrolna (C) zawsze pojawia się na teście. Jej obecność świadczy o odpowiedniej ilości materiału użytego do badania, pomyślnym procesie migracji substancji oraz stanowi wewnętrzną kontrolę jakości odczynników.

4. MATERIAŁY ZAWARTE W ZESTAWIE

- Test kasetowy NADAL® Lactoferrin
- Instrukcja obsługi
- Probówka na próbkę z buforem

5. MATERIAŁY POTRZEBNE NIEZAWARTE W ZESTAWIE

- Pojemnik na próbkę
- Rękawiczki jednorazowego użytku
- Stoper

6. PRZECHOWYWANIE I TRWAŁOŚĆ TESTU

Test należy przechowywać w zamkniętym opakowaniu w lodówce, lub w temperaturze pokojowej (2-30°C). Test należy zużyć do terminu ważności nadrukowanego na foliowym opakowaniu. Test powinien pozostać zamknięty w foliowym opakowaniu do momentu użycia. Nie zamrażać.

7. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Test przeznaczony tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Nie używać po upływie daty ważności.
- Test powinien pozostać zamknięty w foliowym opakowaniu do momentu użycia.
- Nie używać testu w przypadku uszkodzonego opakowania.
- Należy przestrzegać Dobrej Praktyki Laboratoryjnej, używać odzieży ochronnej oraz jednorazowych rękawiczek. Nie należy jeść, pić, ani palić w miejscu przeprowadzania badania.
- Wszystkie próbki należy traktować jako potencjalnie niebezpieczne i obchodzić się z nimi tak, jakby były zakaźne.
- Po użyciu test należy wyrzucić do pojemnika przeznaczonego na odpady biologicznie niebezpieczne.
- Test należy przeprowadzić w ciągu 2 godzin od otwarcia foliowego opakowania.

8. POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBKI

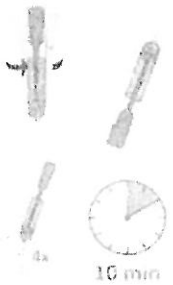
Próbkę kału należy pobrać do czystego i jałowego pojemnika (bez środków konserwujących i podłoża transportowego). Próbki mogą być przechowywane w lodówce (2-8°C) przez 7 dni przed przeprowadzeniem badania. W celu dłuższego przechowywania próbkę należy trzymać zamrożoną w temperaturze –20°C maksymalnie przez okres 1 roku. W takim przypadku musi ona zostać przed badaniem całkowicie rozmrożona i doprowadzona do temperatury pokojowej.

9. PRZEPROWADZANIE TESTU

Pobranie próbki kału (patrz rysunek 1):
Należy używać oddzielnego pojemnika na każdą próbkę. Odkręcić nakrętkę z probówki i za pomocą przyrządu znajdującego się w probówce pobrać próbkę kału poprzez trzykrotne nakłucie w różnych miejscach. Zakręcić probówkę z buforem i próbką kału. Wstrząsnąć probówkę w celu lepszego połączenia się substancji. W przypadku próbki płynnego kału, należy pobrać ją za pomocą pipety i nakropić około 20µl do probówki zawierającej bufor.

Procedura przeprowadzania testu (patrz rysunek 2):
Przed rozpoczęciem testu należy doprowadzić do temperatury pokojowej (15-30°C) test, próbkę kału oraz bufor. Nie otwierać foliowego opakowania do czasu przeprowadzenia testu.

1. Wyjąć kasetę testu NADAL® Lactoferrin z foliowego opakowania i wykonać test tak szybko, jak to możliwe.
2. Wstrząsnąć probówkę w celu lepszego połączenia się substancji. Odłamać końcówkę probówki.
3. Używać oddzielnego przyrządu do pobrania każdej próbki. Nakropić 4 krople (100µL) w otwór testowy (S). Rozpocząć odmierzanie czasu.
4. Wyniki testu należy odczytać po **10 minutach** od naniesienia próbki do otworu testowego.



10. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Oprócz zielonej linii kontrolnej (C) pojawia się także czerwona linia testowa (linia testowa laktoferyny) w obszarze oznaczonym literą T (okno wyników).

Odczyt wyniku: prawdopodobnie występuje nieswoiste zapalenie jelit

W oknie wyników pojawia się tylko jedna zielona linia w polu oznaczonym literą C (linia kontrolna).

Odczyt wyniku: prawdopodobnie nie występuje nieswoiste zapalenie jelit.

Całkowity brak zielonej linii kontrolnej (C) niezależnie od pojawienia się lub nie czerwonej linii testowej (T). Niewystarczająca ilość próbki, niepoprawna procedura przeprowadzenia testu lub słaba jakość odczynników są najbardziej prawdopodob-nymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej (C). Zaleca się ponowne zapoznanie się z procedurą przeprowadzania badania oraz powtórzenie badania przy użyciu nowej kasety. Jeśli problem będzie się powtarzał, należy zaprzestać używania testu i skontaktować się z dystrybutorem.

UWAGI DO INTERPRETACJI WYNIKÓW

Intensywność koloru czerwonej linii w obszarze testowym może różnić się w zależności od koncentracji ludzkiej laktoferyny zawartej w próbce. Jednakże ilość substancji zawartej w próbce oraz stopa wzrostu jej zawartości nie może być stwierdzona przy użyciu tego testu jakościowego.

NADAL® Lactoferrin (test kasetowy)

Szybki test do jakościowego wykrywania ludzkiej laktoferyny w ludzkim kale
Testy tylko do użytku in-vitro.
Nr produktu: 1200001

11. KONTROLA JAKOŚCI

Wewnętrzna procedura kontrolna jest wbudowana w kasetę testu. Zielona linia pojawiająca się w polu kontrolnym (C) służy jako wewnętrzna kontrola. Potwierdza ona, że do badania użyta została odpowiednia ilość próbki, a badanie przeprowadzone zostało zgodnie z instrukcją.

12. OGRANICZENIA TESTU

1. Test należy przeprowadzić w ciągu 2 godzin od otwarcia foliowego opakowania.
2. Zbyt duże próbki kału może przyczynić się do zafałszowania wyniku testu (pojawienie się brązowych linii lub brak linii kontrolnej).
3. Próbki kału pacjentów cierpiących na czynną chorobę zapalną jelit wywołującą ciężkie obojętnochłonne zapalenie jelit, (np. choroba Leśniowskiego-Crohna czy wrzodziejące zapalenie jelita grubego), dadzą wynik potwierdzający obecność ludzkiej laktoferyny. Test NADAL® Lactoferrin może być wrażliwy na diagnozę u pacjentów z przewlekłą biegunką.
4. Wynik pozytywny potwierdza obecność ludzkiej laktoferyny w próbce kału. Niemniej jednak może być on wywołany także przez czynniki inne niż choroba zapalna jelit. Wynik pozytywny powinien zostać potwierdzony dodatkowymi badaniami. Endoskopia i histologia pobranej próbki są metodami na wykrycie i ilościową ocenę stanu zapalnego.
5. Wyniki negatywne nie wykluczają stanu zapalnego; niektóre choroby takie jak celiakia czy mikroskopowe zapalenie jelit wywołują głównie mononuklearne zapalenie.
6. Laktoferyna jest składnikiem mleka z piersi, wynik będzie pozytywny u dzieci karmionych piersią dlatego też test nie powinien być używany do oceny noworodków karmionych piersią.

13. OCZEKIWANE WYNIKI

W infekcjach jelitowych krążące neurofile migrują do zakażonych tkanek i uwalniają wiele rodzajów ziarnistości. Laktoferyna jest związana z wtórnymi (swoistymi) ziarnistościami, które są uwalniane synchronicznie z innych lizosomalnych białek podczas fagocytozy. Tak więc laktoferyna w kale jest uznana za marker aktywności leukocytów w infekcjach jelit.

Wzrost liczby leukocytów w kale sugeruje odpowiedź zapalną na infekcję bakteryjną obejmującą gatunki Salmonelli, gatunki Shigella, Campylobacter jejuni i Clostridium difficile, podczas gdy u większości wirusowych infekcji zauważalny jest inwazyjny proces zapalny z niewielką migracją neurofilii.

14. CHARAKTERYSTYKA TESTU

Czułość

Przy użyciu testu NADAL® Lactoferrin, próbka zawierająca laktoferynę o stężeniu równym lub wyższym 10ug hLf/g kału, wykazuje pozytywne wyniki.

Różne stopnie rozcieńczenia laktoferyny były testowane bezpośrednio w probówce z buforem lub wstrzykiwane w negatywną próbkę kału zgodnie z intrukcją zawartą w zestawie, aby ustalić granicę wykrywalności testu.

Wykrywalność ludzkiej laktoferyny za pomocą testu NADAL® Lactoferrin wykazuje czułość >99% w porównaniu do innych testów dostępnych na rynku.

Swoistość

Wykrywalność ludzkiej laktoferyny za pomocą testu NADAL® Lactoferrin wykazuje swoistość >99% w porównaniu do innych testów dostępnych na rynku.

Test NADAL® Lactoferrin jest przeznaczony do wykrywania ludzkiej laktoferyny, wykazując brak reakcji krzyżowych z bydlęcą laktoferyną.

15. BIBLIOGRAFIA

1. Amemoto K. et al. Clinical evaluation of fecal lactoferrin and 1-antitrypsin in pediatric gastrointestinal infections. Pathophysiology. Vol 3; 1996; p. 87-90.
2. Walker, T.R. et al. Fecal Lactoferrin is a Sensitive and Specific Marker of Disease Activity in Children and Young Adults with Inflammatory Bowel Disease. J. Pediatr Gastroenterol. Nutr. April 2007; Vol 44, No 4, p. 414-422.

Oznaczenia

	Patrz: ulotka informacyjna		Temperatura przechowywania
CE	Znak zgodności CE		Data ważności
IVD	Tylko do użytku in-vitro	Σ	Wystarczające na 'n' powtórzeń
REF	Numer katalogowy		
LOT	Numer serii		Nal von minden GmbH Carl-Peschken-Str. 9 47441 Moers

Rev: 1, 2015-01-30, MW

1. Zastosowanie

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jest szybkim testem immunochromatograficznym typu Lateral Flow do jakościowego oznaczania *Clostridium difficile* toksyn A i toksyn B (*C. difficile* Toxins A&B) jak również *Clostridium difficile* dehydrogenazy glutaminianowej (*C. difficile* GDH) w ludzkich próbkach kału. Test ten służy jako środek pomocniczy przy diagnozie infekcji *Clostridium difficile* i przeznaczony jest wyłącznie do profesjonalnego użytku.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Clostridium difficile (C. difficile) jest tlenową gram-dodatnią bakterią, tworzącą przetrwalniki. Zdolność *C. difficile* do wytwarzania przetrwalników jest główną cechą, umożliwiającą tej bakterii długie przetrwanie u pacjentów w ich fizycznym otoczeniu oraz ułatwia jej przenoszenie. *C. difficile* przenoszone jest drogą fekalno-oralną.

C. difficile jest najczęstszym zarazkiem szpitalnym, z którym powiązani są hospitalizowani pacjenci posiadający biegunkę poantybiotykową lub rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego. Dojrzała flora bakteryjna jelita grubego dorosłej osoby, jest z reguły odporna na kolonizację *C. difficile*. Gdy jednak normalna flora bakteryjna jelita zostanie zmieniona, odporność na kolonizację zanika. W taki sposób każdy czynnik, który powiązany jest z normalną florą bakteryjną jelita, może podwyższyć ryzyko kolonizacji *C. difficile* po ekspozycji na antybiotyki, w szczególności takie o szerokim spektrum działania, jak penicylina, cefalosporyna i klindamycyna.

C. difficile może wydalać dwie toksyny o wysoko nuklearnym ciężarze: toksyny A i B, które odpowiedzialne są za kliniczne manifestacje, mogą spowodować samoistnie ustępującą wodnistą biegunkę, pierunujące rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego, jak również toksyczne rozszerzenie okrężnicy, a nawet śmierć.

Clostridium difficile dehydrogenazy glutaminianowej (*C. difficile* GDH) jest enzymem, który w dużych ilościach produkowany jest przede wszystkim przez toksyczne i nietoksyczne szczepy, co czyni je znakomitym biomarkerem.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jest szybkim testem immunochromatograficznym typu Lateral Flow do jakościowego oznaczania toksyn A i toksyn B *C. difficile* jak również *C. difficile* GDH w ludzkich próbkach kału.

Test kasetowy składa się z obudowy z tworzywa sztucznego, trzech różnych pasków testowych do jakościowego oznaczania *C. difficile* toksyn A, *C. difficile* toksyn B lub *C. difficile* GDH. Kolorowe, monoklonalne koniugaty koloidalnego złota i przeciwciała przeciw *C. difficile* toksyny A-, przeciw *C. difficile* toksyny B oraz przeciw *C. difficile* GDH są wstępnie powleczone na każdej membranie.

Po pobraniu próbki kału, próbka zostaje ekstrahowana z buforem w próbce. Następnie kilka kropli ekstraktu dodawanych jest do każdego zagłębienia na próbkę na kasecie testowej.

Jeżeli próbka wędruje wzdłuż membrany, oznaczone barwnikiem koniugaty przeciwciał wiążą się w antygenami toksyn A, toksyn B lub antygenami GDH (jeżeli są zawarte w próbce). Powstają przy tym kompleksy antygen-przeciwciało. Kompleksy te wiążą przeciwciała przeciw toksynie A, przeciw toksynie B oraz GDH w obszarze linii testowej kasety testowej i powodują pojawienie się różowych linii.

Podczas nieobecności toksyn A, toksyn B lub GDH, nie pojawiają się linie w danym obszarze testowym testu kasetowego. Mieszanina wędruje dalej wzdłuż membrany. Niezwiązane koniugaty wiążą się z odczynnikami w każdym obszarze linii kontrolnej, przy czym każdorazowo powstaje różowa linia, która wskazuje, że dodana została wystarczająca ilość próbki i że membrana jest wystarczająco nasączona.

4. Materiały zawarte w zestawie

- 10 testów kasetowych NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH
- 10 pipet jednorazowych z tworzywa sztucznego (dla płynnych próbek kału)
- 2 probówki z buforem (2 mL)
- 1 instrukcja obsługi

5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Przechowywać zamknięte testy kasetowe w temperaturze 4-30°C. Kaseta testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Test kasetowy jest stabilny do daty użyteczności podanej na opakowaniu foliowym. Nie zamrażać zestawów testowych.

7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Tylko do profesjonalnej diagnostyki *in-vitro*.
- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego (pola wyniku).
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej probówki dla każdej próbki.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami lub zestawem testowym.
- Podczas kontaktu z próbkami stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały odczynniki zakaźne. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas wszystkich procesów jak również standardowych dyrektyw dla odpowiedniej utylizacji próbek.
- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantuje braku przenoszonych

patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane jako potencjalnie zakaźne. Posługując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (*np.* unikać połknięcia lub wdychania).

- Zużyte materiały testowe powinny być zutylizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.
- Wszystkie odczynniki i materiały, które mają kontakt z potencjalnie zakaźnymi próbkami, powinny być zdezynfekowane odpowiednim środkiem lub poddane procesowi autoklawu, przez przynajmniej jedną godzinę w temperaturze 121°C.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Pobieranie i przechowywanie próbek:
Próbki kału powinny być pobrane jak najszybciej po wystąpieniu objawów. Rozpuszczone próbki bez interferencji z wydajnością testu, mogą być przechowywane przez 3 dni w temperaturze 2-8°C. Dla dłuższego przechowywania nierozpuszczonych próbek, zaleca się przechowywanie próbek w temperaturze -20°C lub zimniej. Nie zaleca się ponownego rozmrażania i zamrażania próbek, ponieważ może to prowadzić do fałszywych wyników.

Wskazówka: Nie zbierać próbek do pojemników z nośnikami, środkami konserwującymi, surowicami zwierzęcymi lub środkami czyszczącymi, ponieważ mogą one interferować z testem.

Przygotowanie próbki:
Oznaczyć probówki nazwiskiem pacjenta lub identyfikacją kontrolną oraz datą.

Stałe próbki kału
Odkręcić nakrętkę probówki i nakłuć sprężyną częścią nakrętki trzy różne miejsca kału, aby pobrać ilość próbki wielkości ziarnka grochu.

Włożyć nakrętkę wraz z próbką kału z powrotem do probówki i zamknąć ją dobrze.

Płynne próbki kału
Pobrać próbkę przy pomocy pipety i dodać 200 µL (5 kropli) do probówki z buforem i zamknąć ją dokładnie.

9. Przeprowadzanie testu

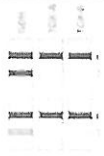
Przed rozpoczęciem testu doprowadzić testy oraz próbkę z buforem do temperatury pokojowej (15-30°C). Otworzyć opakowanie foliowe dopiero tuż przed przeprowadzeniem testu.

1. Wyciągnąć kasetę testową NADAL® C difficile Toxins A+B/GDH z zamkniętego opakowania foliowego.
2. Wyekstrahować próbkę w probówce poprzez długie, energiczne potrząsanie. Wyłamać końcówkę probówki.
3. Trzymać probówkę pionowo i dodać trzy krople (100 µL) wyekstrahowanej próbki do każdego zagłębienia na próbkę na kasecie testowej.

4. Wynik odczytać po 10 minutach od naniesienia próbki. Nie interpretować wyników po upływie więcej jak 10 minut.

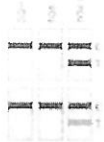
10. Interpretacja wyników

Pozytywny dla GDH:
Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C" i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T" dla GDH.



Pozytywny dla toksyn A (TOX A):
Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C" i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T" dla toksyn A (TOX A).

Pozytywny dla toksyn B (TOX B):
Kolorowa linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej „C" i kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej „T" dla toksyn B (TOX B).



Wskazówka: kombinacja pozytywnych parametrów dla różnych parametrów jest możliwa.

Negatywny:
Każdorazowo pojawi się kolorowa linia w każdym obszarze kontrolnym „C". Nie pojawią się kolorowe linie w obszarze linii testowej „T" dla GDH, toksyn A (TOX A) i toksyn B (TOX B).

Nieważny:
Przynajmniej jedna linia kontrolna „C" się nie pojawi. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnych, muszą zostać odrzucone.

Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej. Sprawdzić przebieg procesu i powtórzyć badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać już tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

11. Kontrola jakości

Wewnętrzna kontrola:
Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

Zewnętrzna kontrola:
Zaleca się zastosowanie zewnętrznych kontroli pozytywnych i negatywnych do oznaczania właściwej wydajności testów.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH został specjalnie skonstruowany do oznaczania antygenów *C. difficile* toksyn A, *C. difficile* toksyn B lub *C. difficile* GDH.
- Jak przy wszystkich procesach diagnostycznych *in-vitro*, lekarz powinien potwierdzić wynik przy pomocy innych metod klinicznych.
- Negatywny wynik nie koniecznie wyklucza infekcję *C. difficile*. Może ona być spowodowana przez proteolityczne trawienie toksyn, spowodowane niewłaściwym przechowywaniem próbki. Jeżeli istnieje uzasadnione podejrzenie infekcji, powinna zostać przebadana kolejna próbka kału.
- Pozytywny wynik nie wyklucza obecności innych czynników chorobotwórczych.
- Kolor linii kontrolnych i testowych może nieco się zmieniać się, w zależności od koloru próbki kału, np. pojawiły się ciemnoniebieskie linie (zamiast lini różowych) podczas badania zielonego lub ciemnozielonego kału. Takie zabarwienie kału następuje w przypadku leczenia niedoboru żelaza fumaranem żelaza.

13. Charakterystyka testu

GDH

Czułość analityczna
Wydajność testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które przygotowane zostały z komercyjnie dostępnych wyczyszczonych antygenów GDH. Dolna granica wykrywalności testu dla GDH wynosi 5 ng/mL.

Test GDH z konkurencji wykazał analityczną czułość na poziomie 10 ng/mL podczas testowania tego samego antygenu GDH.

Czułość i swoistość diagnostyczna:
Przeprowadzono badanie porównawcze pomiędzy analizatorem DiaSorin i testem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH, używając w tym celu panelu 59 ludzkich próbek kału.

		Analizator DiaSorin		
		+	-	Suma
NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (GDH)	+	13	1	14
	-	3	39	42
	Suma	16	40	56

Czułość diagnostyczna: 81% (13/16)

Swoistość diagnostyczna: 97,5% (39/40)

Ogólna zgodność: 93% (52/56)

Dwie próbki zostały zidentyfikowane przy pomocy analizatora DiaSorin jako wątpliwe i jedna próbka została oznaczona przy pomocy testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH jako niepewna. Dlatego nie zostały one uwzględnione w obliczeniach.

Reakcje krzyżowe
Następujące organizmy zostały przebadane i nie wykazywały żadnej reakcji krzyżowej z testem NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH dla GDH:

- *Campylobacter spp*
- *Escherichia coli*
- *Helicobacter pylori*
- *Listeria monogytogenes*
- *Salmonella spp*
- *Shigella spp*
- *Staphilococcus aureus*
- *Yersinia enterocolitica*
- *C. difficile* Toksyna A
- *C. difficile* Toksyna B
- Rotawirus
- Adenowirus

Powtarzalność śródtestowa
Powtarzalność śródtestowa została ustalona na podstawie badania 15 replikatów trzech rozcieńczeń próbek, z różnymi stężeniami GDH. Wszystkie szeregi rozcieńczeń wykazały wyniki zbieżne z oczekiwanymi wynikami. Powtarzalność śródtestowa testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wynosi 100% dla GDH.

C. difficile Toksyna A

Czułość analityczna
Wydajność testu C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które zostały przygotowane z komercyjnie dostępnych, wyczyszczonych antygenów toksyny A. Dolna granica wykrywalności testu dla toksyn A wynosi 4 ng/mL.

Czułość i swoistość diagnostyczna:
Przeprowadzone zostało badanie 63 próbek kału, przy zastosowaniu testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH, w porównaniu do cytotoksyczności oraz metody hodowli komórek.

		Cytotoksyczność		
		+	-	Suma
NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH Test (Toxin A)	+	13	4	17
	-	2	44	46
	Suma	15	48	63

Wszystkie próbki wykazały identyczne wyniki na podstawie cytotoksyczności oraz metod hodowli komórek.

W porównaniu do metody cytotoksyczności, test C. difficile Toxins A+B/GDH Test (toksyny A), wykazał:

Czułość: 86,7% (13/15)

Swoistość: 91,7% (44/48)

Reakcje krzyżowe
Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wykazywał niezmiennie negatywne wyniki dla toksyny A ze stężeniami toksyn B do 500 ng/mL.

C. difficile Toksyna B

Czułość analityczna
Czułość testu NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH została ewaluowana na podstawie szeregu rozcieńczeń, które przygotowane zostały z komercyjnie dostępnego, wyczyszczonego antygenu toksyn B *C. difficile*. Dolna granica wykrywalności testu dla toksyn B wynosi 5 ng/mL.

Swoistość
Zastosowany został oczyszczony antygen *C. difficile* toksyny A, aby określić swoistość testu NADAL® C. difficile Toxins

A+B/GDH Tests (toksyny B). Test NADAL® C. difficile Toxins A+B/GDH wykazywał niezmiennie negatywne wyniki dla toksyn B ze stężeniami toksyn A do 500 ng/mL.

14. Bibliografia

1. Wren, M.W.D. et al. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science 66 (1) 2009
2. Vaishnavi, Ch. "Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases". Indian J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499
3. POUTANEN, S.M. et al. "Clostridium difficile-associated diarrhoea in adults". CMAJ 171(3) 2004 pp. 51-58

Rev. 0, 2016-06-15 AM