# immunocard STAT!®

C. difficile GDH-AB

**Rychlý jednokrokový imunoanalytický test pro současnou detekci antigenu glutamátdehydrogenázy (GDH) *Clostridium difficile* a toxinů A a B v lidské stolici**

REF **750520** IVD

**URČENÝ ÚČEL POUŽITÍ**
Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB je rychlá, kvalitativní imunochromatografická analýza sloužící k simultánní detekci antigenu pro glutamát-dehydrogenázy bakterie *Clostridium difficile* (GDH, nazývaný také „společný antigen“) a toxinů A a B bakterie *Clostridium difficile* v lidské stolici. Tato analýza se používá jako pomůcka při diagnostice onemocnění asociovaných s *C. difficile* a lékař by měl její výsledky používat společně s klinickým obrazem, dalšími laboratorními nálezy a epidemiologickými rizikovými faktory.

**SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ TESTU**
*Clostridium difficile* je sporulující gram-pozitivní anaerobní bakterie, která se může asymptomaticky nacházet až u 5 % zdravé populace.[1] Toxigenní kmeny *Clostridium difficile* představují hlavní příčinu nozokomiálního infekčního průjmu ve vyspělých zemích a rovněž jsou etiologickým agens u přibližně 25 % všech případů průjmu asociovaného s antibiotiky.[2] Každý rok je jen v nemocničních zařízeních v USA zaznamenáno odhadem 300 000 případů infekcí *C. difficile* (CDAD).[1-2] Prakticky jakékoli antibiotikum může pacienta predisponovat k CDAD. Klinický obraz CDAD může sahat od asymptomatické kolonizace po život ohrožující pseudomembranózní kolitidu a toxické megakolon.[2] Patogenní kmeny *C. difficile* produkují alespoň jeden ze dvou biologicky a imunologicky odlišných toxinů:[3] toxin A (enterotoxin) a toxin B (cytotoxin), které jsou hlavními virulentními faktory zodpovědnými za klinické známky onemocnění.

Glutamát-dehydrogenáza (GDH) je enzym, který je ve velkém množství produkován toxigenními i netoxigenními kmeny *C. difficile*, a díky tomu je výborným markerem přítomnosti tohoto mikroorganismu.[4]

Společnosti SHEA (Americká společnost pro zdravotnickou epidemiologii), IDSA (Americká společnost pro infekční onemocnění) a ESCMID (Evropská společnost pro klinickou mikrobiologii a infekční onemocnění) doporučují různé testovací přístupy k laboratorní detekci toxigenního *C. difficile*,[5] včetně různých kombinací testů na GDH, toxiny a NAAT. Jeden z doporučovaných testovacích algoritmů sestává z protokolu o dvou krocích, jehož součástí je úvodní screening vzorku testem na GDH, po kterém v případě pozitivity následuje potvrzení toxinogenity daného kmene pomocí druhého testu, jelikož toxiny jsou produkovány pouze toxigenními a patologickými kmeny tohoto mikroorganismu. Díky analýze Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB může laboratoř v jediné analýze a v jediném kroku získat dva výsledky.

Pozitivní výsledek testu na glutamát-dehydrogenázu bakterie *C. difficile* potvrzuje přítomnost tohoto mikroorganismu ve vzorku stolice; negativní výsledek informuje o absenci mikroorganismu. Pozitivní výsledek testu na toxiny A a/nebo B potvrzuje přítomnost toxigenní *C. difficile*.

**BIOLOGICKÉ PRINCIPY**
Analýza Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB obsahuje dva testovací proužky ve dvojité kazetě, jeden pro GDH a jeden pro toxiny A a B:
1. Proužek GDH využívá kombinaci:
   a. Růžovočervených latexových částeček konjugovaných na specifické protilátky proti GDH *C. difficile* a GDH specifických protilátek imobilizovaných v testovací pozici, pod kontrolním proužkem. Pokud je GDH antigen přítomný, během inkubace se naváže na obě protilátky a v testovací pozici se objeví růžovočervená linka.
   b. Modrých latexových částeček konjugovaných na antigen, který je rozpoznáván specifickou protilátkou, a nasazených na membránu, společně vytvářejících kontrolní proužek testu.
2. Proužek TOXINS (Toxiny) využívá kombinaci:
   a. Růžovočervených latexových částeček konjugovaných na specifické protilátky proti toxinu B a protilátek specifických pro toxin B imobilizovaných v pozici B, pod kontrolním proužkem. Pokud je toxin B přítomný, během inkubace se naváže na obě protilátky a v pozici B se objeví růžovočervená linka.
   b. Růžovočervených latexových částeček konjugovaných na specifické protilátky proti toxinu A a protilátek specifických pro toxin A imobilizovaných v pozici A, pod proužkem pro toxin B. Pokud je toxin A přítomný, během inkubace se naváže na obě protilátky a v pozici A se objeví růžovočervená linka.
   c. Modrých latexových částeček konjugovaných na antigen, který je rozpoznáván specifickou protilátkou, a nasazených na membránu, společně vytvářejících KONTROLNÍ PROUŽEK testu.

   Zředěný vzorek stolice pacienta se dávkuje do obou otvorů pro vzorek na kazetě a migruje po membránách přes testovací a kontrolní zónu. Po 15 minutách inkubace při pokojové teplotě znamená výskyt specifické barevné linky ve čtecím okénku vedle příslušného písmene pozitivní výsledek za přítomnosti kontrolní linky (viz obrázek 1).

**DODÁVANÉ REAGENCIE/MATERIÁLY**
***Maximální počet testů, které lze provést pomocí této soupravy, je uveden na vnější krabičce.***
1. Prostředek Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB: Dva reaktivní testovací proužky umístěné v plastovém rámečku a uzavřené ve fóliovém sáčku s vysoušedlem
2. Lahvičky s ředicím roztokem vzorku: Pufrovaný roztok obsahující 0,095 % azidu sodného jako konzervační látku. Ředicí roztok se dodává v jednorázové plastové lahvičce s kapátkem a aplikační tyčinkou. K použití v dodávaném stavu.
3. Jednorázové přenosové pipety

**NEDODÁVANÉ MATERIÁLY**
1. Sada externích kontrol s pozitivní a negativní kontrolou. Kat. č. Meridian 750501
2. Vortexová třepačka
3. Intervalový časovač

**BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ**
1. Veškeré reagencie jsou určeny pouze k diagnostickému použití in vitro. K použití pouze odborníky.
2. Neodchylujte se od zde popsané metody. Pokud tak učiníte, může dojít k falešně pozitivním nebo falešně negativním výsledkům. Po zahájení analýzy proveďte veškeré následující kroky bez přerušení.
3. Vzorek od pacienta a použitý prostředek Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB mohou obsahovat infekční agens a mělo by se s nimi zacházet na úrovni biologické bezpečnosti 2, jak je doporučeno v příručce CDC/NIH „Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích“.
4. Nezaměňujte reagencie z různých čísel šarží soupravy a nepoužívejte prošlé reagencie.
5. Nepoužívejte ředicí roztok vzorku, pokud vykazuje známky kontaminace nebo srážení.
6. Pufr k ředění vzorků obsahuje azid sodný, který dráždí kůži. Vyvarujte se kontaktu kůže s reagenciemi. Likvidace reagencií obsahujících azid sodný do olověného nebo měděného potrubí může vést ke vzniku výbušných azidů kovů. Tomu lze při takové likvidaci zabránit propláchnutím velkým množstvím vody.
7. Správné výsledky jsou podmíněné správným skladováním stolice a jejím správným naředěním. Nadměrná inokulace stolice do ředicího roztoku vzorku může omezit průtok v prostředku Immunocard STAT! *C.difficile* GDH-AB, což může zapříčinit neplatnost výsledků. Nesprávné skladování stolice nebo nedostatečná inokulace do ředicího roztoku vzorku může zapříčinit falešně negativní výsledky.
8. V případě poškození primárního obalu (fóliového sáčku nebo lahvičky s ředicím pufrem) je nutné produkt zlikvidovat a nepoužívat.
9. Nepoužívejte tento produkt, pokud se v oblasti výsledku jakéhokoli proužku před zahájením používání objeví barevná linka.
10. Pokud je test skladován v chladničce, je zapotřebí nechat komponenty soupravy a vzorky stolice dosáhnout pokojové teploty, neboť studené reagencie a/nebo vzorky mohou snížit funkčnost testu.
11. Krabičku soupravy nelikvidujte, dokud nespotřebujete veškerý její obsah. Krabička obsahuje důležité informace o označení CE produktu a číslo šarže.
12. Použitý produkt se likviduje v souladu s aktuální místní legislativou.

**R-věty a S-věty**
Nejsou známa žádná nebezpečí spojená s tímto produktem.

**DOBA POUŽITELNOSTI A SKLADOVÁNÍ**
Není-li souprava Immunocard STAT! *C. difficile* GDH-AB používána, skladujte ji při teplotě 2–30 C. Datum expirace soupravy je uvedeno na štítku soupravy.

**POZNÁMKY K POSTUPU**
1. Před provedením testu nechte komponenty soupravy a vzorky dosáhnout pokojové teploty (19–27 C), jelikož studené reagencie a/nebo vzorky mohou snížit citlivost analýzy. Reagencie se mohou po zchlazení zahřívat až 60 minut.
2. Před odebráním vzorku je zapotřebí vzorky stolice důkladně promíchat (bez ohledu na jejich konzistenci), aby se zajistila reprezentativnost vzorku.
3. Při dávkování kapek držte lahvičky s reagenciemi ve svislé poloze, abyste zajistili stejnou velikost kapek a jejich konzistentní aplikaci.
4. V některých případech mohou pevné částice narušovat průtok vzorku. V případech, že testovací prostředek neabsorbuje zředěný vzorek snadno, se jemně dotkněte dna otvoru pro vzorek aplikační tyčinkou a posuňte pevné částice stolice, které by mohly bránit absorpci. Případně lze z ředicího roztoku odebrat nový alikvot vzorku a provést nový test. Naředěné vzorky obsahující vysokou koncentraci pevných částic je možno před dalším postupem centrifugovat (1–5 minut při 700 x G) nebo nechat 3–5 minut odstát.
5. Ujistěte se, že přidáte vhodné množství vzorku (přibližně 110 mg stolice) do lahvičky pro ředění vzorku. Pokud je vzorek polotekutý (těžko se s ním manipuluje pomocí pipety), vezměte malou část stolice o průměru přibližně 5 mm (množství dostatečné k pokrytí rýh na tyčince ve vrchní části lahvičky pro ředění vzorku). U tekutých vzorků přidejte 110 µl vzorku do lahvičky pro ředění vzorku (4 kapky, pokud používáte jednorázové pipety dodávané se sadou). Neprovádějte test na žádném druhu vzorku bez správného ředění v ředicím roztoku vzorku.
6. Ujistěte se, že do dvou otvorů pro vzorky označených šipkou na plastovém prostředku přidáváte správný objem extrahovaného vzorku. Pokud je objem nižší, než jak je uvedeno, nemusí dojít ke správnému průtoku vzorku kvůli jeho nedostatečnému množství pro dosažení reakčního proužku. Pokud je objem vyšší, namísto očekávaných linek se mohou objevit hnědé linky (viz obrázek 1).

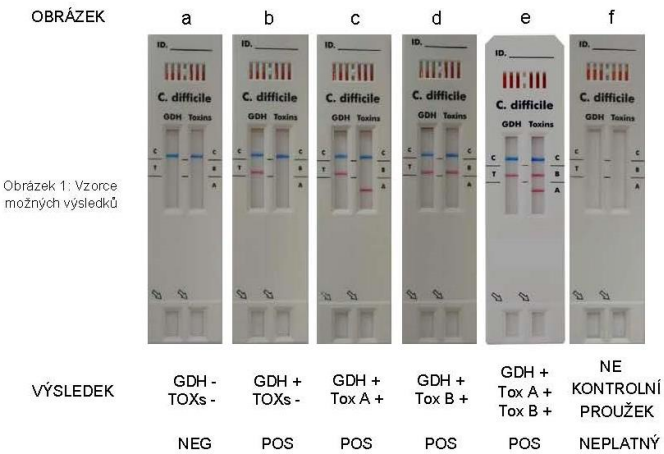
**PŘÍPRAVA REAGENCIÍ**
Reagencie se dodávají připravené k použití. Před použitím nechte komponenty soupravy a vzorky dosáhnout pokojové teploty (19–27 C). Tekuté reagencie před použitím jemně promíchejte. Folii s kazetou otevřete teprve tehdy, jakmile jste připraveni provést analýzu.

**ODBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ**
Test je validován pro čerstvé neošetřené vzorky. Nepoužívejte vzorky odebrané do transportního média ani ty, k nimž byly přidány konzervační látky (jako je formalin, SAF, PVA a podobné) nebo obohacovací média, jelikož jejich přítomnost může zabraňovat správnému průběhu testu.

Vzorky stolice se musí přepravovat ve vzduchotěsné nádobě. Vzorek by měl být otestován co nejdříve, před testováním však může být uchováván po dobu až 2 dnů při teplotě 2–8 C. Není-li testování možné provést v tomto časovém rámci, vzorky by měly být ihned po obdržení zmrazeny a až do testování uchovávány ve zmrazeném stavu (−20 C). Vzorky smějí být zmrazeny a rozmrazeny nejvýše dvakrát. Před testováním musí vzorky dosáhnout pokojové teploty.

**POSTUP TESTU**
Před testováním nechte všechny testovací kazetu, ředicí roztoky vzorku a vzorky dosáhnout pokojové teploty (19–27 C). Vyjměte reagencie z krabičky soupravy, aby se ohřály. Zahřátí zchlazených reagencií může trvat až 60 minut.
1. Pro každý testovaný pacientský vzorek označte jednu zkumavku s ředicím roztokem vzorku.
2. Opatrně odšroubujte uzávěr z lahvičky tak, abyste ředicí pufr vzorku nevylili.
3. Ihned poté přidejte vzorek stolice nebo kontroly, a to následovně:
   a. Formované/tuhé vzorky stolice – Důkladně vzorek stolice promíchejte. Pomocí tyčinky připojené k uzávěru lahvičky odeberte malé množství o průměru 5 mm.
   b. Polotuhé vzorky stolice – Důkladně vzorek stolice promíchejte. Pomocí tyčinky připojené k uzávěru lahvičky odeberte vzorek, který zcela pokryje drážky na tyčince.
   c. Tekuté vzorky stolice – Pomocí jednorázových pipet dodávaných v soupravě důkladně promíchejte vzorek stolice a poté odeberte a přeneste do lahvičky 4 kapky stolice (odpovídá objemu 110 µL).
   d. Externí pozitivní nebo negativní kontrola: viz návod k použití EXTERNAL CONTROL SET.
4. Opatrně přidejte vzorek do odpovídající lahvičky obsahující ředicí pufr. Pevně našroubujte uzávěr a lahvičku důkladně protřepejte, aby se směs homogenizovala.
5. Použijte 1 testovací kazetu Immunocard STAT! na každý vzorek nebo kontrolu. Jakmile budete připraveni provést test, vyjměte testovací kazetu z fóliového sáčku. Sáček i vysoušedlo zlikvidujte. Označte prostředek jménem pacienta nebo názvem kontroly.
6. Odlomte vršek uzávěru lahvičky. Použijte k tomu kousek papíru, abyste předešli rozlití.
7. Převraťte lahvičku a držte ji ve svislé poloze. Přidejte 4 kapky naředěného vzorku do otvoru pro vzorek na každém testovacím proužku (obdélníková okénka označená šipkou).
8. Inkubujte testovací kazetu při teplotě 19–27 C po dobu 15 minut.
9. Vizuálně odečtěte výsledky každé kazety do 30 sekund od skončení inkubace.

**INTERPRETACE VÝSLEDKŮ**
Kazeta obsahuje dva testovací proužky: na levé straně se nachází testovací proužek pro GDH a na pravé straně je testovací proužek pro toxiny A a B.
Možné výsledky jsou znázorněny na obrázku 1.




Obrázek 1: Vzorce možných výsledků

**NEGATIVNÍ VÝSLEDKY**: **MODRÝ** proužek na pozici kontrolní linky (C). Na žádném ze dvou testovacích proužků na kazetě nejsou přítomny jiné proužky.
Negativní výsledek v testovacím proužku GDH antigenu indikuje, že antigen *C. difficile* je buď nepřítomný, nebo je přítomen v koncentraci, která je pod limitem detekce této analýzy.
Negativní výsledek v testovacím proužku toxinů indikuje, že toxiny *C. difficile* buď ve vzorku nejsou přítomné, nebo jsou přítomny v koncentraci, která je pod limitem detekce této analýzy.

**POZITIVNÍ výsledky pro GDH:** **RůžovoČERVENÝ** proužek na pozici linky TEST (T), za přítomnosti **MODRÉHO** proužku na pozici kontrolní linky (C) v LEVÉM TESTOVACÍM PROUŽKU kazety. Pozitivní výsledek indikuje přítomnost bakterie *C. difficile* ve vzorku.

**POZITIVNÍ VÝSLEDKY pro TOXINY:** **RůžovoČERVENÝ** proužek na pozici linky TOXIN A (A) a/nebo TOXIN B (B), za přítomnosti **MODRÉHO** proužku na pozici kontrolní linky (C) v PRAVÉM TESTOVACÍM PROUŽKU kazety. Pozitivní výsledek indikuje přítomnost toxinu/toxinů bakterie *C. difficile*.

Výsledek přečtěte okamžitě na konci inkubační doby. Jakýkoli **RůžovoČERVENÝ** pruh, který se vyskytne na pozici testovací linky zařízení GDH, toxinu A nebo toxinu B po prodloužené inkubační době, se nehlásí jako pozitivní.

**NEPLATNÉ výsledky:**

Test se považuje ze neplatný a výsledky nelze vykazovat v případě:

- NEPŘÍTOMNOSTI KONTROLNÍCH LINEK (**MODRÉ**) na určené pozici pro kontrolní linku (C). Test je neplatný, protože nepřítomnost kontrolního proužku indikuje nesprávné provedení testu nebo snížení kvality reagencií.
- Přítomnosti nejméně jedné linky ŠPATNÉ BARVY (například: tmavě červené, hnědočervené a šedé linky namísto **RŮŽOVĚČERVENÉ**). Pruhy s barvami jinými než **RŮŽOVĚČERVENÁ** mohou indikovat zhoršení reagencií, chyby v postupu nebo přítomnost rušivých látek .

**Pokud je jakýkoli výsledek NEPLATNÝ nebo obtížný k interpretaci, test se musí opakovat na novém přípravku se stejným vzorkem (použijte novou lahvičku pro ředění vzorku). Pokud původní vzorek opakovaně poskytuje nečitelné výsledky, obstarejte nový vzorek a proveďte opětovné testování.**

DŮLEŽITÁ RADA:

Nízké procento vzorků může vykazovat **negativní výsledek na přítomnost antigenu GDH, avšak pozitivní na přítomnost toxinů.** V takových případech se test považuje za **„nehlásitelný“** a opakuje se po nové přípravě původního vzorku stolice (viz výše).
Pokud se výsledek nezmění, musí se test opakovat na nově získaném vzorku stolice, nebo se musí zvážit použití alternativního doplňkového diagnostického testu, jako je test NAAT pro detekci genů Tox A / Tox B na původním vzorku.

**KONTROLA KVALITY**
***Tento test musí být prováděn podle platných místních, státních nebo federálních předpisů nebo podle požadavků akreditačních orgánů.***
Při každém použití je nutné komponenty soupravy prohlédnout a ověřit, že nejeví zjevné známky mikrobiální kontaminace, námrazy, netěsnosti nebo jiného poškození.

INTERNÍ KONTROLY: Interní kontroly jsou obsaženy uvnitř testovacího proužku, a proto se jejich vyhodnocení provádí společně s každým testem.
- **MODRÉ** proužky na pozici kontrolní linky slouží jako kontrola průběhu testu a indikují, že test proběhl správně, došlo k řádnému průtoku vzorku a v době použití byly reagencie testu aktivní.
- Bílé pozadí okolo kontrolní a testovací linky také slouží jako kontrola průběhu testu. Kontrolní či testovací linky, jejichž viditelnost je zhoršena silně zbarveným pozadím, mohou test zneplatnit, jelikož mohou indikovat sníženou kvalitu reagencií, použití nevhodného vzorku nebo nedostatečnou výkonnost testu.

EXTERNÍ KONTROLY: Externí pozitivní a negativní kontroly je nutné analyzovat s každou soupravou s novým číslem šarže nebo novou dodávkou. Počet testů prováděných za použití externích kontrol bude určen podle požadavků místních, státních nebo federálních předpisů či akreditačních orgánů. Externí kontroly slouží k monitorování reaktivity reagencií a výkonnosti testu. Selhání kontrol při reprodukci očekávaných výsledků může značit, že některá z reagencií nebo komponent již v době použití není reaktivní, že test nebyl proveden správně nebo že nedošlo k přidání reagencií či vzorku.

Výsledky, které se při použití kontrol očekávají, jsou popsány v části INTERPRETACE VÝSLEDKŮ. Pokud nejsou pozorovány očekávané kontrolní reakce, proveďte první krok k zjištění hlavní příčiny selhání, kterým je zopakování kontrolních testů. Soupravu nepoužívejte, pokud kontrolní testy neposkytnou správné výsledky.

**OČEKÁVANÉ HODNOTY**
Četnost průjmu asociovaného s antibiotiky a vyvolaného *C. difficile* závisí na několika faktorech, včetně pacientské populace, typu institucionálního pracoviště a epidemiologii. Hlášený výskyt onemocnění asociovaného s *C. difficile* u pacientů s podezřením na onemocnění asociovaná s antibiotiky je 15–20 %, nicméně na různých pracovištích se mohou objevovat jiné hodnoty pozitivního výskytu, nad nebo pod tímto rozsahem.

**OMEZENÍ POSTUPU**
1. Cílem této analýzy je potvrdit přítomnost společného antigenu GDH a toxinů v pacientově stolici. Negativní výsledek testu zcela nevylučuje infekci toxigenním kmenem *C. difficile*. Výsledky této analýzy je třeba používat ve spojení s informacemi, které byly u daného pacienta získány prostřednictvím klinického hodnocení a dalších diagnostických postupů.
2. Tento test je kvalitativního rázu, a proto by se při sestavování zprávy obsahující výsledek neměla provádět kvantitativní interpretace podle intenzity pozitivní linky.
3. Tento test se musí používat s nekonzervovanou lidskou stolicí; žádný jiný typ vzorku nebyl ověřen.
4. Pro spolehlivost výsledků je důležité stolici správně uchovávat. Degradace vzorku může vést k falešně negativním výsledkům. Toxiny *C. difficile* jsou zejména při nízkých koncentracích relativně stabilní při teplotě 2–8 C, ale při pokojové teplotě rychle degradují. Rychlost degradace toxinů se liší mezi jednotlivými pacientskými vzorky, a tudíž ji nelze predikovat. Z tohoto důvodu je v zájmu nejlepší praxe, aby byly vzorky zchlazeny nebo zmrazeny do dvou hodin od odběru a aby byly vzorky otestovány v časovém rozmezí doporučovaném v tomto příbalovém letáku. Nepřijímejte vzorky, které nebyly řádně odebrány, přepravovány nebo s nimi bylo nesprávně manipulováno.
5. Byly identifikovány dvě samostatné skupiny, které mohou asymptomaticky přechovávat *C. difficile* s velmi vysokým výskytem. Míra kolonizace až do 50 % a vyšší byla hlášena u kojenců a míra výskytu až do 32 % u pacientů s cystickou fibrózou.
6. Přidání nesprávného množství stolice do lahvičky s ředicím roztokem vzorku může vést k falešně negativním nebo falešně pozitivním výsledkům.
7. Nadměrná doba inkubace testů může mít za následek získání falešně pozitivních výsledků. Provádění inkubace testů při nižší teplotě nebo po kratší dobu může mít za následek získání falešně negativních výsledků.
8. Vysoce hemoragické vzorky mohou interferovat s analýzou a poskytovat falešně negativní výsledek nebo zapříčinit výskyt nespecifických proužků. Tento jev bývá běžně doprovázen změnou zbarvení proužků. Jestliže proužky nemají správné zbarvení (kontrolní linky musí být **MODRÉ**, testovací linky musí být **růžovočerveného**), výsledky nereportujte – viz obr. 1.
9. Mezinárodní doporučené postupy doporučují vyhnout se opakovanému testování a testům vyléčení pomocí jakéhokoli typu C. difficile, protože pacienti mohou vylučovat spory, DNA a/nebo toxiny C. difficile po delší době po ústupu průjmu nebo po klinickém zotavení. Z tohoto důvodu nelze stanovit výkonnost testu pro ověření účinnosti eradikace (test vyléčení).

**VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY**
Klinická výkonnost analýzy Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB byla vyhodnocována celkově na 304 vzorcích pro GDH a 180 vzorcích pro toxiny A a B. Vzorky byly odebrány retrospektivně a skladovány zmrazené. Byla provedena dvě nezávislá hodnocení: jedno v laboratořích výrobce a druhé externí nezávislou klinickou laboratoří.

Charakteristika vzorků byla provedena pomocí běžně dostupné imunoanalýzy pro GDH a pro toxiny A a B. Rozdílné výsledky byly vyřešeny pomocí dalších testů, včetně tzv. Zlatého 2tandard, a to analýzy využívající buněčnou cytotoxicitu a neutralizaci.
Pozitivní shoda se používá k hodnocení senzitivity analýzy Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB, zatímco negativní shoda se používá k hodnocení specificity.
Srovnávací výsledky níže:

**TABULKA 1 – Interní hodnocení výrobce**

| | KOMPARÁTOR: ELISA C.DIFF CHECK – 60 | | |
|---|---|---|---|
| Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB **Test GDH** | POZ | NEG | CELKOVÝ POČET |
| POZITIVNÍ | 53 | 0 | 53 |
| NEGATIVNÍ | 0 | 87 | 87 |
| Celkový počet | 53 | 87 | 140 |
| | | | |
| | | % | CI 95% |
| **Pozitivní shoda (klinická senzitivita)** | 53/53 | **100** | 93,2 – 100 |
| **Negativní shoda (klinická specificita)** | 87/87 | **100** | 95,7 – 100 |
| | | | |
| | KOMPARÁTOR: ELISA PROSPECT | | |
| Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB **Test TOXINS** | POZ | NEG | CELKOVÝ POČET |
| POZITIVNÍ | 45 | 0 | 45 |
| NEGATIVNÍ | 6* | 85 | 91 |
| Celkový počet | 51 | 85 | 136 |
| | | | |
| | | % | CI 95% |
| **Pozitivní shoda (klinická senzitivita)** | 45/51 | **88,2** | 76,6 – 94,5 |
| **Negativní shoda (klinická specificita)** | 85/85 | **100** | 95,6 – 100 |

*POZITIVNÍ VÝSLEDKY potvrzené pomocí CCTNA (analýza využívající buněčnou cytotoxicitu a neutralizaci)

**TABULKA 2 – Nezávislé laboratorní hodnocení**

| | KOMPARÁTOR: C.DIFF QUIK CHECK® | | |
|---|---|---|---|
| Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB **Test GDH** | POZ | NEG | CELKOVÝ POČET |
| POZITIVNÍ | 42 | 1** | 43 |
| NEGATIVNÍ | 4* | 117 | 121 |
| Celkový počet | 46 | 118 | 164 |
| | | | |
| | | % | CI 95% |
| **Pozitivní shoda (klinická senzitivita)** | 42/46 | **91,3** | 79,7 – 96,6 |
| **Negativní shoda (klinická specificita)** | 117/118 | **99,2** | 95,4 – 99,8 |
| | | | |
| | KOMPARÁTOR: C.DIFF QUIK CHECK® COMPLETE | | |
| Immunocard STAT! C.difficile GDH-AB **Test TOXINS** | POZ | NEG | CELKOVÝ POČET |
| POZITIVNÍ | 19 | 0 | 19 |
| NEGATIVNÍ | 5*** | 20 | 25 |
| Celkový počet | 24 | 20 | 44 |
| | | | |
| | | % | CI 95% |
| **Pozitivní shoda (klinická senzitivita)** | 19/24 | **79,2** | 59,5 – 90,7 |
| **Negativní shoda (klinická specificita)** | 20/20 | **100** | 83,9 – 100 |

ŘEŠENÍ ROZDÍLNÝCH VÝSLEDKŮ
Rozdílné vzorky byly analyzovány pomocí testu Techlab ELISA C.DIFF CHECKTM 60.

*Ze 4 vzorků Immunocard STAT GDH NEG/COMPARATOR POS byly 2 vyhodnoceny jako NEGATIVNÍ a 1 byl potvrzen jako POZITIVNÍ.
**Immunocard STAT GDH POS/COMPARATOR NEG byl vyhodnocen jako NEGATIVNÍ.
***Z 5 vzorků Immunocard STAT TOXINS NEG/COMPARATOR POS byly 2 vyhodnoceny jako NEGATIVNÍ pomocí třetího testu (ELISA), 2 vykazovaly koncentraci toxinu vedle LoD testu a 1 byl POZITIVNÍ.

**ANALYTICKÁ CITLIVOST**
Limit detekce (LoD) analýzy byl stanoven následovně:
- Analýza GDH: sériová ředění glutamát dehydrogenázy C. difficile z TCG BIOMIC byla použita ke stanovení hodnoty LoD. Byla získána průměrná hodnota **0,195 ng/mL.**
- Analýza toxinů A a B: sériová ředění toxinů A a B z TCG BIOMIC byla použita ke stanovení hodnoty LoD. Pro toxin A byla získána průměrná hodnota **1,56 ng/mL** a pro toxin B byla získána průměrná hodnota **0,75 ng/mL.**

**REPRODUKOVATELNOST**
PŘESNOST MEZI DNY
Pomocí stejné šarže testu Simple GDH-Toxins byla změřena křivka 2ensitivity a reálné vzorky byly stanoveny jako NC („negativní vzorek“), LPC („slabý pozitivní vzorek“) a PC („pozitivní vzorek“) pro každý analyt, a to ve dvou vyhotoveních, po dobu pěti dnů s časovým odstupem. Výsledky byly velmi reprodukovatelné při dosažení maximálních rozdílů ředění ½.

PŘESNOST MEZI OPERÁTORY
V triplikátech tři operátoři měřili křivku 2ensitivity pro každý analyt a reálné vzorky byly stanoveny jako NC („negativní vzorek“), LPC („slabý pozitivní vzorek“) a PC („pozitivní vzorek“) pro každý analyt. Pozorované rozdíly nepřesahovaly ředění ½ se standardem v žádném z případů a s reálnými vzorky byly získány stejné výsledky.

PŘESNOST MEZI ŠARŽEMI
Tři různé šarže testu Simple GDH-Toxins byly hodnoceny paralelně analýzou senzitivních křivek a reálných vzorků stanovených jako NC („negativní vzorek“), LPC („slabě pozitivní vzorek“) a PC („pozitivní vzorek“) pro každý analyt. Analýza byla provedena téhož dne jednou osobou. Maximální rozdíly byly menší nebo rovny ředění ½ se standardem a stejné výsledky byly získány i s reálnými vzorky, což svědčí o vysoké přesnosti testu mezi šaržemi.

Rozdíly zjištěné v části „Reprodukovatelnost“ jsou přijatelné pro kvalitativní imunochromatografickou techniku, která je inherentně variabilní.

**EFEKT PROZÓNY / HOOK EFEKT**
Byly testovány velmi vysoké koncentrace tří analytů detekovaných analýzou, aniž by byl pozorován pokles intenzity pozitivních signálů. Tyto hodnoty koncentrace (vyšší než maximální hodnoty nacházející se v populaci) jsou následující:
- GDH: 6 000 ng/mL, přibližně 30 000násobek analýzy LoD
- Toxin A: 3 000 ng/mL, přibližně 1 900násobek analýzy LoD
- Toxin B: 3 000 ng/mL, přibližně 4 000násobek analýzy LoD

**INTERFERUJÍCÍ LÁTKY**
Látky uvedené níže ve specifikovaných koncentracích nevykazovaly interferenci s výsledky testu, pokud byly přidány ke vzorkům stolice (pozitivním i negativním):

| | |
|---|---|
| Plná krev 20% (v/v) | Ibuprofen 1,41 mg/mL |
| Vankomycin 1,17 mg/mL | Loperamid 9,38 µg/mL |
| Metronidazol 1,17 mg/mL | Kyselina acetylsalicylová 2,34 mg/mL |
| Pepto-Bismol 1% (v/v) | Síran barnatý 4,4 mg/mL |
| Omeprazol 11,7 µg/mL | Mucin 5% (w/w) |
| Cimetidin 7,38 mg/mL | Kyseliny stearová a palmitová (1:1) |
| Paracetamol 2,34 mg/mL | |

**ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA**
Zkřížená reaktivita analýzy byla hodnocena pro různé bakterie, které se mohou nacházet v trávicím traktu. Byla provedena dvě nezávislá hodnocení: jedno v laboratořích výrobce a druhé externí nezávislou klinickou laboratoří.

**Interní hodnocení výrobce**

Test nevykazoval zkříženou reaktivitu s žádnou z bakteriálních suspenzí uvedených níže:

| | |
|---|---|
| *Escherichia coli* | 0,25 x $10^8$ (CFU/mL) |
| *Salmonella spp.* | 0,25 x $10^8$ (CFU/mL) |
| *Campylobacter coli* | 0,25 x $10^8$ (CFU/mL) |
| *Campylobacter jejuni* | 0,25 x $10^8$ (CFU/mL) |
| *Yersinia enterocolitica* | 0,25 x $10^8$ (CFU/mL) |
| *Entamoeba histolytica* | 1,56 x $10^5$ (CFU/mL) |
| *Giardia lamblia (trofozoity)* | 5,5 x $10^6$ (buňky/mL) |
| *Giardia lamblia (cysty)* | 1,7 x $10^6$ (buňky/mL) |

Test byl vyhodnocen na vzorcích stolice silně pozitivních pro následující mikroorganismy, aniž byla pozorována jakákoli zkřížená reaktivita: adenovirus, rotavirus, norovirus GII, astrovirus, Campylobacter spp., Helicobacter pylori, Giardia lamblia, Cryptosporidium parvum.

Byla zaznamenána zkřížená reaktivita se vzorkem stolice silně pozitivním pro *Entamoeba histolytica* (slabě pozitivní výsledek pro toxin B). Další doplňkové testování však zkříženou reaktivitu nepotvrdilo.

**Nezávislé externí laboratorní hodnocení**

Vzorky stolice byly inokulovány následujícími mikrobiálními agens (do konečné koncentrace vzorku přibližně 1 x $10^8$ organismů/mL):

*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 gosseri, Listeria monocitogenes, Plesiomonas shigelloides, Proteus mirabilis, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enteriditis, Salmonella typhi, Salmonella typhimurium, Serratia marcescens, Shigella dysenteriae, Shigella flexnerii, Shigella sonneii, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica.*

ŽÁDNÝ z uvedených organismů nevykazoval zkříženou reaktivitu s tímto testem.

**INFORMACE A PODPORA**

Ohledně jakýchkoli technických dotazů a stížností se obraťte na technickou podporu společnosti Meridian Bioscience na čísle +390331433636 nebo na e-mailu: TS@meridianbioscience.com, případně zavolejte distributorovi ve své zemi (www.meridianbioscience.com/diagnostics/distributors/)

**LITERATURA**

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 2005 Feb 54(2):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 2008 Sep 70(1):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 2010 Oct 467(7316):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.
8. Crobach MJ, Planche T, Eckert C, Barbut F, Terveer EM, Dekkers OM, Wilcox MH, Kuijper EJ European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for Clostridium difficile infection. Clin Microbiol Infect 2016 Aug 22(Suppl 4):S63-81.


**SN750520IFU** **REV. 06/23**


| | |
|---|---|
| | Meridian Bioscience Europe SRL<br>Via Dell'industra 7 – 20035 Villa Cortese (Milano) – Italy<br>Telephone: (+39) 0331433636 - E-mail: info@meridianbioscience.eu<br>www.meridianbioscience.com |
| | Product Support: mbe-techservice@meridianbioscience.eu<br>For IFUs & MSDS: www.meridianbioscience.com/diagnostics |
| CH REP<br>Authorized Representative in Switzerland | MedEnvoy Switzerland<br>Gotthardstrasse 28<br>6302 Zug<br>Switzerland |


**POUŽITÍ SYMBOLŮ**
Na etiketě/obalu tohoto výrobku může být uveden jeden nebo více těchto symbolů.
**Legenda k symbolům.**

| | | | |
|---|---|---|---|
| | Použitlné do | CONTROL + | Pozitivní kontrola |
| LOT | Kód šarže | CONTROL − | Negativní kontrola |
| IVD | Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro | EC REP | Autorizovaný zástupce v Evropském společenství |
| CE | Tento výrobek splňuje pozadavky smernice 98/79/ES o diagnostických zdravotnických prostredcích in vitro | SMP PREP DIL SPE | Přístroj na přípravu vzorků obsahující ředidlo roztok vzorku |
| REF | Katalogové číslo | | Nezmrazujte |
| | Přečtěte si návod k použití | BUF RXN | Promývací pufr |
| | Výrobce | | Pouz k hodnocení výkonu IVD |
| Σ | Obsahuje dostatečné množství pro «n» testu | SOLN STOP | Zastavovací roztok |
| | Omezení teploty | CONJ ENZ | Enzymový konjugát |
| SN | Sériové číslo | CONTROL | Kontrola testu |
| TEST | Testovací prostředek | REAG | Reagencie |
| | Datum výroby | BUF WASH | Koncentrace promývacího pufru: 20X |
| BUF | Pufr | | Varování |
| CONJ | Konjugát | DIL SPE | Ředicí roztok vzorku |
| SUBS | Substrát | BUF WASH 20X | Koncentrace promývacího pufru: 20X |
| R Only | Pouze na lékařský předpis | DET REAG | Detekční reagencie |
| | **Nepoužívejte, je-li obal poškozen** | TUBE | **Prázdná zkumavka** |
| | **UPOZORNĚNÍ: Riziko nebezpečí** | CH REP | **Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku** |
| 2 | **Pouze na jedno** | | |

Pro technickou pomoc volejte služby technické podpory na čísle 800-343-3858 mezi 8:00 a 18:00, Východní standardní čas USA.

APPROVED
CZ-2023-07-31