

# Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH+Toxina A+Toxina B en Casete (Heces)

## Ficha Técnica

[Español]

Prueba Rápida de diagnóstico in vitro para la detección de *Clostridium difficile* glutamato deshidrogenasa (*Clostridium difficile* GDH), Toxina A, y antígeno de Toxina B en muestras de heces.

Para uso profesional de diagnóstico in vitro.

### USO PREVISTO

El Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de *Clostridium difficile* GDH, Toxina A y Toxina B en la muestra de heces humanas.

### RESUMEN

*Clostridium difficile* es una bacteria anaeróbica que actúa como un patógeno oportunista: crece en el intestino cuando la flora normal ha sido alterada por el tratamiento con antibióticos<sup>1,2,3</sup>. Las cepas toxinógenas de *Clostridium difficile* causan infecciones de diarrea leve a colitis pseudomembranosa, potencialmente llevando a la muerte.<sup>4</sup>

La enfermedad es causada por dos toxinas producidas por cepas toxinógenas de *C. difficile*: Toxina A (enterotoxina que daña el tejido) y Toxina B (citotoxina). Algunas cepas producen toxinas A y B, otras producen toxina B solamente. El papel potencial de una tercera toxina (binaria) en la patogenidad aún se debate.<sup>4</sup>

El uso de glutamato deshidrogenasa (GDH) como marcador antigénico de la proliferación de *C. difficile* ha demostrado ser muy eficaz porque todas las cepas producen una cantidad elevada de esta enzima.<sup>5,6</sup>

El Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B en Casete permite la detección de GDH, Toxina A y Toxina B específicas para *C. difficile* en muestras fecales.

### PRINCIPIO

La Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH en Casete detecta tres antígenos distintos en muestras fecales para *C. difficile*, a saber, GDH, Toxina A y Toxina B en tres tiras de prueba diferentes en un solo casete de prueba, detectando simultáneamente tres antígenos específicos de *Clostridium difficile*.

### Para la prueba de C. difficile GDH-específica

La membrana está recubierta previamente con anticuerpo anti-*C.diff*.GDH en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpo anti-*C.diff* GDH. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-*C.diff* GDH en la membrana y generar una línea coloreada.

### Para la prueba de C. difficile Toxina A-específica

La membrana está prerrevestida con anti-*C.diff*. Anticuerpo Toxina A en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpo anti-Toxina A de *C.diff*. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-toxina A de *C.diff* en la membrana y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea de color en la región de la línea de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

### Para la prueba de C. difficile Toxina B-específica

La membrana está recubierta previamente con anticuerpo anti-Toxina B de *C.diff* en la región de la línea de prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpo anti-toxina B de *C.diff*. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-*C.diff* Toxina B en la membrana y generar una línea coloreada. La presencia de esta línea de color en la región de la línea de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

Para servir como un control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la región de la línea de control de las tres tiras de prueba, lo que indica que se ha agregado el volumen adecuado de la muestra y se ha producido la absorción de la membrana.

### REACTIVOS

El casete de prueba contiene partículas recubiertas de anticuerpos anti-*Clostridium difficile* GDH, anti-*Clostridium difficile* Toxina A y anti-*Clostridium difficile* Toxina B y anticuerpos anti-*Clostridium difficile* GDH, anti-*Clostridium difficile* Toxina A y anti-*Clostridium difficile* Toxina B recubiertos en el membrana.

### PRECAUCIONES

- Para uso profesional de diagnóstico in vitro solamente. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- Maneje todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos en todos los procedimientos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección ocular cuando se analicen las muestras.
- La prueba utilizada debe descartarse de acuerdo con las reglamentaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar tal como viene empacado a temperatura ambiente o refrigerado (2-30 ° C). La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impreso en la bolsa sellada. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso. **NO CONGELAR**. No utilizar después de la fecha de caducidad

### OBTENCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras de heces se deben analizar tan pronto como sea posible después de la recolección. Si es necesario, la muestra original de heces se puede almacenar a 2-8 ° C durante 3 días o -20 ° C durante períodos de tiempo más largos; la muestra extraída en buffer se puede almacenar a 2-8 °

C durante 1 semana o -20 ° C durante períodos de tiempo más largos. Asegúrese de que las muestras no sean tratadas con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

### MATERIALES

- Casetes de Prueba
- Cuentagotas
- Ficha Técnica
- Tubo de recogida de muestras con buffer

### Materiales proporcionados

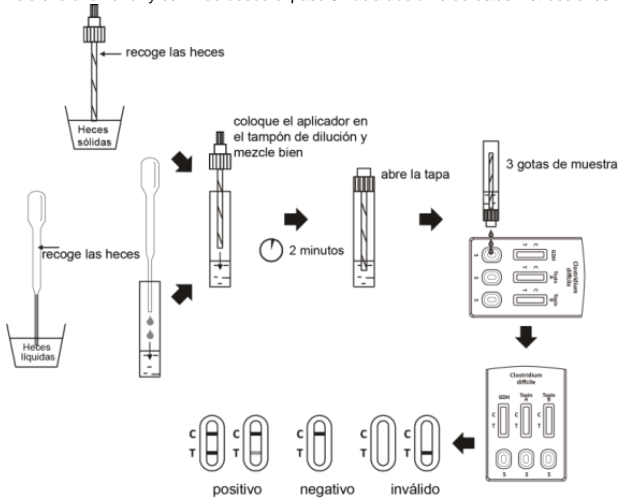
### Materiales requeridos, pero no proporcionados

- Contenedor de heces
- Timer
- Centrífuga

### PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba, el espécimen, el buffer de recolección de heces y / o el control deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C) hasta el momento de realizar el ensayo

- Pararecolectarmuestrasfecales:
    - Recolecte suficiente cantidad de heces (1-2mL o 1-2g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco para obtener suficientes antígenos (si están presentes). Se obtendrán mejores resultados si el análisis se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recolección. La muestra recolectada puede almacenarse durante 3 días a 2-8 ° C si no se prueba dentro de las 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C.
  - Paraprocesarmuestrasfecales:
    - Para **Muestras Sólidas**:
      - Desenrosque la tapa del tubo de recolección de muestras, luego **al azar clave el aplicador dentro de la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes** para coleccionar aproximadamente **50 mg de heces** (equivalentes a 1/4 de un guisante). No sacuda la muestra fecal.
    - Para **Muestras Líquidas**:
      - Sostenga el gotero verticalmente, aspire la muestra fecal y luego transferir **2 gotas de la muestra líquida** (aproximadamente 80 µL) al tubo de recolección de muestras que contiene el buffer de extracción.
  - Ajuste la tapa en el tubo de recogida de muestras, luego **agite vigorosamente el tubo** de recogida de muestras para mezclar la muestra y el buffer de extracción. Deje el tubo de recolección para la reacción durante 2 minutos.
  - Deje que la bolsase equilibre a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa de aluminio y úselo lo antes posible. Se obtendrán mejores resultados si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.
  - Sostenga el tubo de recogida de muestras en posición vertical y **rompa la punta del tubo** de recogida de muestras. Invierta el tubo de recolección de muestras y **transfiera 3 gotas completas** de la muestra extraída (aproximadamente 120 µL) a cada pozo de muestra del casete de prueba, luego inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pozo de la muestra (S). Vea la ilustración a continuación.
  - Lea los resultados a los **10 minutos** después de dispensar la muestra. No lea los resultados después de 20 minutos.
- Nota:** Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra diluida contenida en el vial del buffer de extracción. Recoja 120µL de sobrenadante, dispense en el pozo de la muestra (S). Inicie el cronometrar y continúe desde el paso 5 hacia adelante de estas instrucciones.



### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de la prueba aparecen en tres ventanas de prueba diferentes respectivamente para GDH, Toxina A o Toxina B. Los criterios de interpretación son los mismos para la positividad o la negatividad para antígenos específicos bajo pruebas según la indicación de la ventana de prueba respectiva. Los resultados deben interpretarse de la siguiente manera.

**POSITIVO: "Dos líneas coloreadas aparecen.** Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T).

**NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos de *Clostridium difficile* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

**NEGATIVO: Una línea coloreada aparece en la región de la línea de control (C).** No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T).

**NO VÁLIDO: La línea de control (C) no aparece.** El volumen de muestra insuficiente o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

### CONTROL DE CALIDAD

Se incluye un control de procedimiento interno en la prueba. Una línea coloreada que aparece en la región de la línea de control (C) es un control procedimental interno positivo. Confirma un volumen de muestra suficiente, una mecha adecuada y una técnica de procedimiento correcta. Los estándares de control no son proporcionados con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

### LIMITACIONES

- El Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B en Casete es solo para uso de diagnóstico in vitro.
- La prueba es cualitativa y no uede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. La presentación clínica y otros resultados de la prueba deben tenerse en cuenta para establecer el diagnóstico.
- Una prueba positiva no excluye la posibilidad de que otros patógenos puedan estar presentes.

### VALORES PREVISTOS

En las muestras fecales de un individuo sano, la prueba de *Clostridium difficile* debería dar un resultado negativo para cualquiera de los antígenos probados. El Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B se ha comparado con otra prueba rápida comercial líder. La correlación entre dos sistemas es 95.3% para *C.diff* GDH y 96.0% para *C.diff* Toxina A y 94.7% para *C.diff* Toxina B.

### CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA

#### Límite de Detección

Los valores límite de detección de el Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B en Casete fue 1 ng / ml para GDH, 2 ng / ml para Toxina A y 7 ng / ml para Toxina B.

#### Specificidad – Especificidad

Método	Otra Prueba Rápida		Resultados Totales	
Combo Prueba Rápida <i>Clostridium difficile</i> GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces)	Resultados	Positivo	Negative	
	Positivo	116	8	124
	Negativo	6	170	176
Resultados Totales		122	178	300

Sensibilidad Relativa: 95.1% (95%CI:\*89.6%-98.2%) \*Intervalo de confianza

Especificación Relativa: 95.5% (95%CI:\*91.3%-98.0%)

Exactitud Relativa: 95.3% (95%CI:\*92.3%-97.4%)

#### Resultados de Clostridium difficile Toxina A

Método	Otra Prueba Rápida		Resultados Totales	
Combo Prueba Rápida <i>Clostridium difficile</i> GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	115	5	120
	Negativo	7	173	180
Resultados Totales		122	178	300

Sensibilidad Relativa: 94.3% (95%CI:\*88.5%-97.7%) \* Intervalo de confianza

Especificación Relativa: 97.2% (95%CI:\*93.6%-99.1%)

Exactitud Relativa: 96.0% (95%CI:\*93.1%-97.9%)

#### Resultados de Clostridium difficile Toxina B

Método	Otra Prueba Rápida		Resultados Totales	
Combo Prueba Rápida <i>Clostridium difficile</i> GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces)	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	112	6	112
	Negativo	10	172	188
Resultados Totales		122	178	300

Sensibilidad Relativa: 91.8% (95%CI:\*85.4%-96.0%) \* Intervalo de confianza

Especificación Relativa: 96.6% (95%CI:\*92.8%-98.8%)

Exactitud Relativa: 94.7% (95%CI:\*91.5%-96.9%)

#### Repetibilidad y la Reproducibilidad

Para verificar la precisión dentro del lote (repetibilidad), las mismas muestras positivas y una solución de buffer se procesaron 3 veces en kits del mismo lote de producción en las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron como se esperaba para comprobar la precisión entre lotes (reproducibilidad), algunas muestras (positivas y buffer) se procesaron en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados fueron confirmados como se esperaba.

#### Reactividad Cruzada

Se realizó una evaluación para determinar la reactividad cruzada de el Combo Prueba Rápida *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces). No hay reactividad cruzada contra los patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes como los siguientes:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella flexneri</i>	
<i>E.coli O157:H7</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>H.pylori</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

#### Sustancias que interfieren

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas de *Clostridium difficile* GDH + Toxina A + Toxina B.












Ácido ascórbico: 20 mg / dl      Ácido oxálico: 60 mg / dl      Bilirrubina: 100 mg / dl

Ácido úrico: 60 mg / dl      Aspirina: 20 mg / dl      Urea: 2000 mg / dl  
 Glucosa: 2000 mg / dl      Cafeína: 40 mg / dl      Albúmina: 2000 mg / dl

**【BIBLIOGRAFIA】**

1. RamadassBalamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: *Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction*, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008
2. E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl6, p. 2-18, Oct. 2006
3. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T.Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
4. Ramsey L. et al: *Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications*, Annals of Surgery 235 (3) p. 363-372: Mar. 2002
5. Wren MW., Kinson R., Sivapalan M., Shemko M., Shetty NR.: *Detection of Clostridium difficile infection: a suggested laboratory diagnostic algorithm*, British Journal of Biomedical Sciences, 66(4) p. 175-179, 2009.
6. Willis DH. And JA Kraft: *Confirmation that the latex-reactive protein of Clostridium difficile is a Glutamate Dehydrogenase*. Journal of clinical microbiology, 30, p. 1363-1364, May 1992

**Index of Symbols**

	Consult Instructions For Use		Tests per kit		Authorized Representative
	For in vitro diagnostic use only		Use by		Do not reuse
	Store between 2-30°C		Lot Number		Catalog #
	Do not use if package is damaged		Manufacturer		



**EC REP**  
**MedNet GmbH**  
 Borkstrasse 10  
 48163 Muenster  
 Germany

Numero: 146346200  
 Fecha de vigencia: 2020-10-27