



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

Ficha Técnica

REF ICD-635	Español
-------------	---------

Prueba Rápida de diagnóstico in vitro para la detección de Clostridium difficile (Clostridium difficile GDH), Antígeno de 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^{1,2,3}. Las cepas toxigénicas de Clostridium difficile causan infecciones de diarrea leve a colitis pseudomembranosa, potencialmente llevando a la muerte⁴. La enfermedad es causada por dos toxinas producidas por cepas toxigénicas 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 patogenicidad aún se debate.⁴

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.^{5,6} 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 prevestida 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 anti-Clostridium difficile GDH, anti-Clostridium difficile Toxina A y anti-Clostridium difficile Toxina B partículas conjugadas de oro con anti-Clostridium difficile GDH, Clostridium difficile Toxina A y anti-Clostridium difficile Toxina B recubiertas en la 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 regulaciones locales.
• La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.

【ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD】
Almacenar tal como viene empacado a temperatura ambiente o refrigerao (2-30 °C). La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa 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】
Materiales Proporcionados
• Casete de Prueba • Ficha Técnica • Tubo de recogida de muestras con buffer • Cuentagotas

Materiales requeridos pero no proporcionados
• Contenedor de heces
【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

1. Para recolectar muestras fecales:
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.

2. Para procesar muestras fecales:
• Para **Muestras Sólidas:**

Desenrosque la tapa del tubo de recolección de muestras, luego al azar clave el aplicador de nro de la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para colectar 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 transfiera 2 gotas de la muestra líquida (aproximadamente 80 µL) al tubo de recolección de muestras que contiene el buffer de extracción.

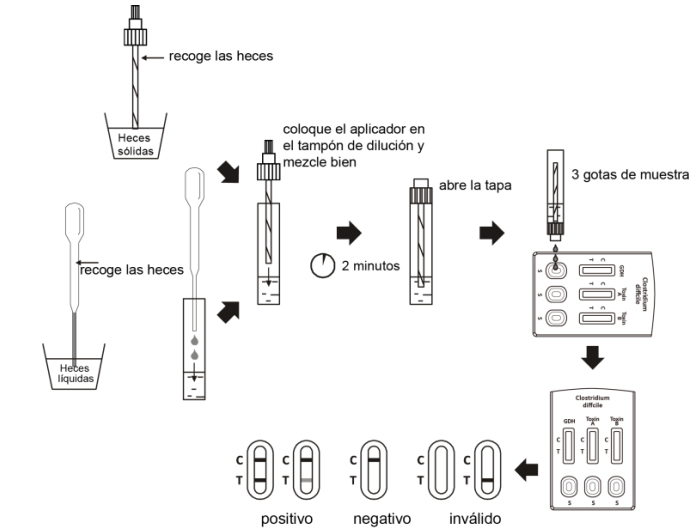
Ajuste la tapa en el tubo de recogida de muestras, luego **agite vigorosamente el tubo** de recogida de muestras para mezclar la muestra y el buffer de extracción. Deje el tubo de recolección para la reacción durante 2 minutos.

3. Deje que la bolsa se 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.

4. 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.

5. 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 120 µL de sobrenadante, dispense en el pozo de la muestra (S). Inicie el cronómetro 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 C: *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 falta 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 con una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

【LIMITACIONES】
1. El Combo Prueba Rápida Clostridium difficile GDH + Toxina A + Toxina B en Casete es solo para uso de diagnóstico in vitro.
2. La prueba es cualitativa y no puede 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.
3. 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 98.5% para C.diff GDH y 98.5% para C.diff Toxina A + 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 1 ng / ml para Toxina B.

Sensibilidad - Especificidad

Método	Otra Prueba Rápida		Resultados Totales
Combo Prueba Rápida Clostridium difficile GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces)	Positivo	Negative	
Resultados Totales	78	2	80
	1	119	120
	79	121	200

Sensibilidad Relativa: 98.7% (95%CI: 93.1%-100%) *Intervalo de confianza
Especificación Relativa: 98.3% (95%CI: 94.2%-99.8%)
Exactitud Relativa: 98.5% (95% CI: 95.7%-99.7%)

Resultados de Clostridium difficile Toxina A+Toxina B

Método	Otra Prueba Rápida		Resultados Totales
Combo Prueba Rápida Clostridium difficile GDH + Toxina A + Toxina B en Casete (Heces)	Positivo	Negativo	
Resultados Totales	56	2	58
	1	141	142
	57	143	200

Sensibilidad Relativa: 98.2% (95%CI: 90.6%-99.9%) * Intervalo de confianza
Especificación Relativa: 98.6% (95%CI: 95.0%-99.8%)
Exactitud Relativa: 98.5% (95%CI: 95.7%-99.7%)

Repetibilidad y la Reproducibilidad
Para verificar la precisión dentro del lote (repetibilidad), las mismas muestras positivas y una solución de buffer se procesaron 15 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:

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

【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 MM., Kinross 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. Wilks 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

Índice de Símbolos

	Sólo para uso diagnóstico in vitro		Pruebas por kit		Representante autorizado
	Almacenar entre 2-30°C		Usar antes		No vuelva a utilizar
	No utilizar si el paquete está dañado		Número de lote		# de Catálogo
	Fabricante		Consulte las instrucciones de uso		

Hangzhou AllTest Biotech Co., Ltd.
#550, Yinhai Street
Hangzhou Economic & Technological Development Area
Hangzhou - 310018, P. R. China
www.alltests.com.cn

CE **EC REP**
MedNet GmbH
Borkstrasse 10
48163 Münster
Germany

Establecimiento elaborador:
HANGZHOU ALL TEST BIOTECH CO., LTD.
550 Yinhai Street Hangzhou Economic and Technological Development Area- 310018 Hangzhou PR China

Importador y Acondicionador: IRAOLA y CIA. S.A.
Viamonte 2146 – Piso 7º y 10º Tel. 4952-9800
Ciudad de Buenos Aires – (CP 1056ABN) – Argentina
Director Técnico: Farmacéutica SUSANA E INDBURU – M.N. 11653
Autorizado por la A.N.M.A.T. PM 95.222

Número:
Fecha de vigencia: