

USO INDICADO

La prueba rápida para la detección C.difficile GDH (heces) es un inmunoensayo para la detección cualitativa de antígenos de Clostridium difficile glutamato dehidrogenasa (GDH) en materia fecal humana. La prueba es útil para ser utilizada como un marcador de screening para la presencia de C. difficile. Confirmado mediante pruebas adicionales tales como ensayos que detecten toxina A y B de Clostridium difficile, se podrá obtener un diagnóstico rápido y preciso de infección por C. difficile. La prueba es para uso profesional exclusivamente.

INTRODUCCION

El Clostridium difficile es un bacilo anaeróbico gram positivo con forma de espora. Las cepas toxigenicas de C. difficile producen dos tipos de toxinas diferentes constituyendo los factores de virulencia esenciales para la infección por C. difficile (CDI). La CDI es considerada la responsable de aproximadamente el 25% de las diarreas relacionadas con el consumo de antibióticos, mientras que la CDI puede llevar a una colitis pseudomembranosa (PMC), requiriendo un tratamiento urgente con antibióticos efectivos contra C. difficile, los que sin tratamiento pueden comprometer seriamente la vida del paciente. En caso de PMC, la mortalidad por CDI puede ascender de un 6% a un 30%.

La población asintomática puede ser portadora toxigenica de C. difficile, entre ellos, algunos de cepas epidémicas. Aproximadamente, uno de cada cinco pacientes colonizados desarrollaría posteriormente diarrea por C. difficile.

El glutamato dehidrogenasa es una enzima metabólica producida por todas las cepas de C. difficile. Como un antígeno común en C. difficile, GDH está altamente conservado. A pesar de que la detección de GDH no distingue toxigenicos de no toxigenicos, el GDH ha probado ser un buen marcador de screening para C. difficile, porque la enzima se produce en grandes cantidades y puede ser fácilmente detectada en muestras de materia fecal. La mayor utilidad del GDH es su uso como un filtro para descartar especímenes negativos y para seleccionar especímenes para pruebas adicionales.

La prueba rápida para la detección C.difficile GDH (heces) es un inmunoensayo de flujo lateral para la detección de antígeno GDH

de C. difficile. Es un método rápido y fácil de realizar para detectar la presencia de C. difficile.

PRINCIPIO

La prueba rápida para la detección C.difficile GDH (heces) detecta antígenos GDH de C. difficile a través de una interpretación visual de desarrollo de color en la tira interna del dispositivo. La muestra de materia fecal es agregada al tubo de dilución con buffer optimizado para extraer los antígenos de GDH de C. difficile de la muestra. Durante el análisis, los antígenos extractados se unen a los anticuerpos conjugados anti- GDH a las partículas coloreadas de en la zona de la muestra de cada tira. Al migrar la mezcla a través de la membrana por capilaridad e interactuar con los reactivos en la membrana, el complejo será capturado por cada anticuerpos anti-GDH hacia la zona de detección de la membrana. El exceso de partículas coloreadas es capturado en la zona interna de control. La presencia de una línea roja en la zona de la muestra indica un resultado positivo para antígenos particulares de GDH, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La presencia de una línea coloreada en la zona de control de la membrana sirve como procedimiento de control, indicando que un correcto volumen de muestra ha sido utilizado y que la prueba funciona correctamente.

MATERIALES

Materiales suministrados:

Caja conteniendo:

- 25 cassetes
- 25 tubos aplicadores con buffer
- 1 Ficha técnica

Material requerido no suministrado:

- Cronómetro
- Centrifuga
- Recipiente recolector de muestra

ADVERTENCIAS

- Solo para Diagnóstico de Uso "In Vitro". No utilizar después de su fecha de vencimiento.

- Este kit contiene productos de origen animal. El certificado del origen del estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos de transmisión. Considerar todos los productos como potencialmente infecciosos.
- Los dispositivos se encuentran envasados en envases de aluminio que evitan la humedad durante su almacenamiento. No utilizar el dispositivo si el envase se encuentra dañado.
- No utilice el buffer si se encuentra turbio o decolorado, puede significar contaminación microbiana.
- Procedimientos inadecuados de recolección de la muestra, almacenamiento y transporte pueden llevar a falsos resultados negativos.
- Las muestras deben ser manejadas y descartadas como muestras de riesgo biológico.
- Tome las precauciones adecuadas para el almacenamiento indicado en esta ficha.
- La prueba, una vez utilizada debe descartarse de acuerdo con las regulaciones locales.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- Almacene la prueba entre 2-30 °C cuando no se use.
- El dispositivo debe permanecer en su envase hasta ser utilizado.
- La prueba es estable hasta la fecha de expiración marcada en el envase.
- NO CONGELAR.
- Evitar la contaminación de los componentes de este kit. No utilizar si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitado, que puede conducir a falsos resultados.

PROCEDIMIENTO

Lleve el cassette, la muestra y/o los controles y el buffer a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

A. Recolección y pre tratamiento de las muestras:

1. Para la toma de muestra use el tubo recolector de muestras provisto en el kit. Siga las instrucciones del procedimiento de la ficha técnica. Para mejores resultados, la prueba debe realizarse en el transcurso de 1 hora de recolectada la muestra.
2. Para especímenes sólidos: Desenrosque y remueva el tubo aplicador de dilución. Evite derramar o salpicar la solución del

tubo. Recolecte la muestra insertando el aplicador en tres lugares distintos de la materia fecal, obteniendo aproximadamente 50 mg. de materia fecal.

Para especímenes líquidos: Sostenga la pipeta en posición vertical, aspire la muestra de materia fecal y transfiera 2 gotas (aprox. 50µl.) dentro del tubo de recolección, con el buffer de dilución.

3. Coloque el aplicador nuevamente dentro del tubo y enrosque la tapa. Evite romper la punta del tubo de dilución.

4. Agite vigorosamente el tubo de recolección para mezclar la muestra con el buffer extractor. Las muestras preparadas en el tubo de recolección pueden ser almacenadas por 6 meses a -20° si no son analizadas dentro de la hora.

B. Análisis de las muestras:

1. Saque el cassette del envase sellado y colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada. Rotule el cassette con los datos del paciente. Para obtener mejores resultados, analizar la muestra dentro de 1 hora.

2. Rompa la punta del tubo de dilución usando papel tissue. Sostenga el tubo en forma vertical y dispense 2 gotas de la solución en el pocillo de la muestra(S) del cassette. Evite la formación de burbujas en el pocillo de muestra(S).

3. Espere la aparición de banda(s) coloreada(s). El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interpretar los resultados a los 20 minutos.

NOTA: si la muestra no migra (por presencia de partículas), centrifugue la muestra extractada en el tubo de recolección. Tome 100µl. del sobrenadante y dispénselo en el pocillo de muestra (S) de un nuevo cassette, y siga las instrucciones mencionadas anteriormente.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

POSITIVO:* Aparecen 2 líneas distintas coloreadas. Una línea de color debe aparecer en la región de la línea de Control (C) y otra línea debe estar en la región de línea de prueba (T).

NEGATIVO: Una línea de color aparecerá en la región de la línea de control (C). No debe aparecer ninguna línea coloreada en la región de prueba (T).

NO VALIDO: No aparece la línea coloreada en la región de la línea de control (C). Volúmenes insuficientes de muestra o técnicas de procedimiento incorrectos son las causas principales. Revise el

procedimiento y repita la prueba utilizando una nueva tira de prueba. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

CONTROL DE CALIDAD

Control de Calidad Interno:

Los controles de procedimiento están incluidos en la prueba. Una línea coloreada aparecerá en la región de la línea de control (C) el cual es un control interno de procedimiento. Esto confirma un volumen de muestra suficiente y un procedimiento correcto.

Control de Calidad Externo:

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de materiales de control para verificar el funcionamiento apropiado del kit.

LIMITACIONES

- La prueba rápida para la detección *C.difficile* GDH (heces) esta unicamente indicada para el Diagnóstico de Uso "In Vitro". y debe ser usada para la detección cualitativa de GDH de *C. difficile* exclusivamente. La intensidad de color en la línea positiva no debe ser evaluado como resultado cuantitativo ni semicuantitativo.
- El diagnostico clínico no debe basarse únicamente en el resultado de la prueba rápida. Un contexto clínico completo del paciente debe ser incluido cuando se toma una decisión diagnóstica, teniendo en cuenta los síntomas clínicos y otra información relevante.
- El no seguimiento en forma correcta del procedimiento y la interpretación de los resultados puede afectar adversamente o invalidar el resultado de la prueba.
- Los resultados obtenidos con la prueba, especialmente en los casos en que las líneas de muestra son débiles y hacen difícil su interpretación, deben ser usados conjuntamente con otra información clínica disponible para el médico.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Sensibilidad y especificidad clínica

Se recolectaron y analizaron con la prueba rápida muestras de

materia fecal de pacientes. Los resultados mostraron que utilizando la prueba rápida para la detección *C.difficile* GDH (heces) en comparación con métodos de inmunoensayo comerciales, la sensibilidad fue >99% y la especificidad fue 99%.

Reactividad cruzada:

Se estudio la reactividad cruzada de los siguientes organismos a 1,0 x10⁹ organismos/ml. Los siguientes organismos no mostraron reactividad cruzada cuando se analizaron con la prueba rápida para la detección *C.difficile* GDH (heces).

Staphylococcus aureus	Proteus mirabilis	Neisseria gonorrhoea
Pseudomonas aeruginosa	Helicobacter pylori	Shigella spp
Enterococcus faecalis	Neisseria meningitidis	Candida albicans
Campilobacter jejuni	Gardenerella vaginalis	Enterococcus faecium
Klebsiella pneumoniae	Acinetobacter calcoaceticus	Hemophilus influenzae
Branhamella catarrhalis	E. coli	Proteus vulgaris

BIBLIOGRAFIA

1. Lyras D, O'Connor J, R. Howard P, M. Sambol S, P, Carter G.P., Phumoonna T., Poon R., Adams V., Vedantam G., Johnson S, Gerding D. N., Rood J. I. Toxin B in essential for virulence of Clostridium difficile Nature. 2009 Apr. 30, 458(7242): 1176.
2. Kuehne S.A., Cartman S.T, Heap J. T., Kelly M.L, Cockayne A., Mintn N.P. The role of toxin A and B in Clostridium difficile infection. Nature in press Sep. 2010.
3. Hung YP, Tsai PJ, Hung KH, Liu HC, Lee CI, et al, (2012) Impact of toxigenic Clostridium difficile colonization and infection among hospitalized adults at a district hospital in southern Taiwan.
4. Carman RJ, Wickman KN, Chen L, et al, Glutamate Dehydrogenase IS Highly Conserved among Clostridium difficile Ribotypes. Journal of Clinical microbiology. 2012, 50 (4): 1425-1426. Doi: 10.1128/JCM.05600-11.

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A., Argentina
Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-42
Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853
Condición de venta: Uso Profesional Exclusivo.
V-00