

USO INDICADO

La prueba rápida para la detección de toxina A/B de *C. difficile* (heces) es un inmunoensayo para la detección cualitativa y simultánea de toxina A y B de *Clostridium difficile* en materia fecal humana. Esta prueba es útil para el diagnóstico rápido y diferencial de infección por de toxina A y B de *Clostridium 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 toxigénica de *C. difficile*, entre ellos, algunos de cepas epidémicas. El diagnóstico de toxina A y B de *C. difficile* juega un papel esencial para el rápido tratamiento y el control de la transmisión de la enfermedad.

Los métodos actuales de diagnóstico de CDI son principalmente la detección cualitativa de la bacteria, toxina o genes de la toxina. La prueba rápida de CDI comenzó a tener mayor importancia para un diagnóstico directo y un efectivo tratamiento de la enfermedad. Un diagnóstico rápido de CDI lleva a reducir la permanencia hospitalaria, y los cuidados del paciente. La prueba rápida para la detección de toxina A/B de *C. difficile* es un inmunoensayo de flujo lateral que utiliza anticuerpos monoclonales de alta sensibilidad que son específicos para los antígenos de toxina A/B. La prueba provee de una detección simple, rápida y

separada de detección de toxina A y B en un solo cassette.

PRINCIPIO

La prueba rápida para la detección de toxina A/B de *C. difficile* detecta antígenos de toxina A/B de *C. difficile* a través de una interpretación visual de desarrollo de color en la tira interna del dispositivo. El dispositivo contiene dos tiras separadas dentro de un mismo cassette, con dos ventanas separadas. Los anticuerpos anti-toxina A/B se encuentran inmovilizados en la región de la membrana de nitrocelulosa de la muestra, de ambas tiras respectivamente. La muestra de materia fecal es agregada al tubo de dilución con buffer optimizado para extraer los antígenos de toxina A y/o B de la muestra. Durante el análisis, los antígenos extractados se unen a los anticuerpos conjugados anti-toxina A/B 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-toxina A o antitoxina B hacia la zona de detección de cada tira. El exceso de partículas coloreadas es capturado en la zona interna de control. La presencia de una línea roja en la zona A/B indica un resultado positivo para antígenos particulares de la toxina, 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 cassettes
- 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 todas 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.
- 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 rápida para la detección de toxina A/B de *C. difficile* entre 2-30°C cuando no se use.
- El dispositivo debe permanecer en su envase hasta ser utilizado.
- NO CONGELAR.
- Evitar la contaminación de los componentes de este kit. No utilizar si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitado.

PROCEDIMIENTO

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

1. Recolección y pre tratamiento de las muestras:

1. Para al 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 las 6 horas de recolectada.

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.

2. 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 80µl. 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 region de prueba (T)

NO VÁLIDO: 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 problemas 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 de toxina A/B de *C. difficile* esta unicamente indicada para el Diagnóstico de Uso "in vitro". y debe ser usada para una detección cualitativa de toxina A/B de *C. difficile* exclusivamente. La intensidad de color en la línea positiva no debe ser evaluado como resultado cuantitativo ni semicuantitativo.
- Toxigenicidad viable y no viable de la bacteria de *C. difficile* pueden ser detectados con la prueba rápida.
- 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 diagnostica, 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.
- Un efecto de prozona puede ocurrir cuando la intensidad del color de la banda disminuye, cuando la concentración de antígeno aumenta. Si se sospecha de efecto prozona, la dilución de la muestra puede aumentar la intensidad del color de la banda de la muestra.

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. Michelle M. Riggs1, Ajay K. Sethi3, Trina F. Zabarsky2, Elizabeth C. Eckstein2, Robin L. P. Jump 1, and Curtis J. Donskey. Asymptomatic Carriers Are Potential Source for Transmission of Epidemic and Nonepidemic *Clostridium difficile* Strains among Long-Term Care Facility Residents. Clin. Infect Dis.(2007) 45 (8): 992-998.J.-

IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

MONTEBIO S.R.L.

Vera 575, C.A.B.A. , Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-31

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condicion de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-00