



CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxin A + Toxin B

Test rápido para la detección simultánea de la glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile* y los antígenos de la Toxina A y Toxina B en heces humanas.

Manual de instrucciones

Kit para 20 determinaciones
(No. de catálogo 41220)

Para uso diagnóstico in vitro
Sólo para uso profesional
Almacenar a 2-30 ° C. No congelar



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax: +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com

Normas de uso:

CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxina A + Toxina B es una prueba inmunocromatográfica rápida para la detección simultánea de la glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile*, la toxina A y la toxina B en muestras fecales humanas que ayudan en el diagnóstico de una infección por *C. difficile*.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN:

El *Clostridium difficile* es una bacteria gram-positiva y anaeróbica que es el agente causal principal de diarrea asociada a antibióticos y colitis pseudomembranosa (1). Este patógeno es capaz de causar la enfermedad que podría ser grave o mortal si no se diagnostica y se trata a tiempo. La exposición a los antibióticos es el principal factor de riesgo para la infección por *C. difficile*. La infección puede desarrollarse si la flora gastrointestinal normal se ve alterada por el tratamiento antibiótico y una persona adquiere *C. difficile* productor de toxina normalmente a través de la vía fecal-oral (2). Los principales factores de virulencia de *C. difficile* son la toxina A y la toxina B (3, 4). Estas toxinas muestran una alta homología de secuencia y funcionalidad. La toxina A ha sido descrita como una enterotoxina que daña el tejido atrayendo a neutrófilos y monocitos, mientras que la toxina B es una citotoxina potente que degrada las células epiteliales del colon (5). La mayoría de las cepas virulentas producen ambas toxinas, sin embargo, las cepas toxina A negativa/toxina B positivas también son capaces de causar la enfermedad (6, 7). La glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile* es una enzima producida en grandes cantidades por todas las

cepas toxigénicas y no toxigénicas, por lo que es un excelente marcador para el organismo (8, 9).

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

El ensayo CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxina A + Toxina B es un inmunoensayo cualitativo para la detección simultánea de la glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile*, la toxina A y toxina B en muestras fecales humanas.

En la región de prueba, la membrana del test A está pre-recubierta con anticuerpos monoclonales contra el antígeno (GDH) de *Clostridium difficile*, la membrana del test B está pre-recubierta con anticuerpos monoclonales contra los antígenos de la toxina A de *Clostridium difficile* y la membrana del test C está pre-recubierta con anticuerpos monoclonales contra el antígeno de la toxina B de *Clostridium difficile*. Durante la prueba, la muestra reacciona con las partículas coloreadas rojas recubiertas con anticuerpos anti-GDH en el test A y / o con anticuerpos anti-toxina A en el test B y / o con anticuerpos anti-toxina B en el test C, que han sido pre-secados en las tiras de prueba.

La mezcla se desplaza hacia arriba en la membrana por acción capilar. En el caso de un resultado positivo en el test A los anticuerpos específicos presentes en la membrana va a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. En el caso de un resultado positivo en el test B los anticuerpos específicos presentes en la membrana van a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. En el caso de un resultado positivo en el test C los anticuerpos específicos presentes en la membrana van a reaccionar con el conjugado de la mezcla y generar una línea de color rojo. La mezcla continúa moviéndose a través de la membrana a los lugares de anticuerpo inmovilizado en la región de la banda de control. Una banda de color verde aparece siempre en las líneas de control y sirve como verificación de que se ha añadido el volumen suficiente de muestra, que el flujo es adecuado y sirve como control interno de los reactivos.

MATERIAL SUMINISTRADO

- Cartuchos CoproStrip™ C. difficile GDH + toxina A + toxina B
- Instrucciones de uso
- Viales de almacenamiento de muestras con buffer

MATERIAL NO SUMINISTRADO

- Contenedores de recogida de muestra
- Guantes
- Temporizador

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional de diagnóstico in vitro.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- El test debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No utilice el test si la bolsa está dañada.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, guantes de un solo uso, no comer, beber o fumar en el área.

- Todas las muestras deben ser consideradas potencialmente peligrosas y manipularse de la misma manera que un agente infeccioso.
- El test debe ser desechado en un contenedor de residuos sanitarios después de la prueba.
- El test debe ser utilizado antes de 2 horas después de haber abierto el embalaje de aluminio.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacene el kit como está empaquetado en la bolsa sellada a temperatura refrigerada o ambiente (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 lo congele.

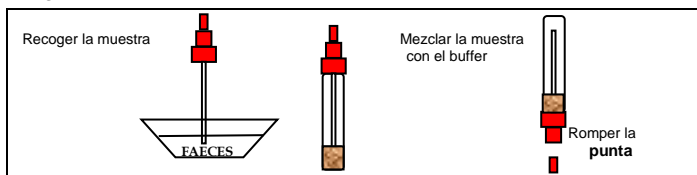
OBTENCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

Reunir suficiente cantidad de heces (1-2 g o ml para muestras líquidas). Las muestras de heces deben recogerse en recipientes limpios y secos (sin conservantes ni medios de transporte). Las muestras se pueden almacenar en el refrigerador (2-8 °C) durante 24 horas antes del ensayo. Para un almacenamiento más largo del espécimen deben mantenerse congeladas a -20 °C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente antes de la prueba.

Para procesar las muestras de heces (ver Figura 1):

Utilice un vial de recogida de muestras por separado para cada muestra. Desenroscar el tapón del vial e introducir el stick en la muestra de heces para recoger la muestra (aprox. 125 mg). Cerrar el vial con el buffer y las heces. Vortear el vial durante 15 segundos con el fin de asegurar una buena dispersión de la muestra. Para las muestras de heces líquidas, aspirar la muestra fecal con un gotero y añadir 125uL en el vial de recogida de muestras con tampón.

Figura 1



PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

Mantenga los test, muestras de heces y viales con el buffer a temperatura ambiente (15-30°C) antes de la prueba. No abrir las bolsas hasta que esté listo para realizar el ensayo.

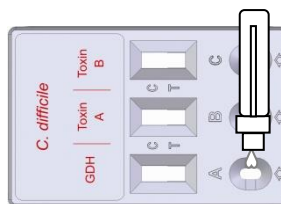
1. Retire el dispositivo de la bolsa sellada y usarla lo antes posible.
2. Agitar el vial de recogida de muestras para facilitar la dispersión de la muestra. Rompa la punta del vial.
3. Utilice un dispositivo separado para cada muestra. Dispensar 4 gotas o 100 uL en cada uno de los pocillos de muestras (es decir, pocillo de GDH, pocillo para toxina A, y pocillo para la toxina B, marcados como S). Inicie el temporizador.

4. Lea los resultados a los 10 minutos después de la dispensación de la muestra.

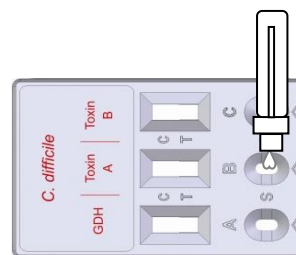
Si el test no corre debido a partículas sólidas, agite la muestra añadida en la ventana de muestra (S) con el stick. Si esto no funciona, dispensar una gota de diluyentes hasta ver que el líquido circula a través de la zona de reacción.

Figura 2.

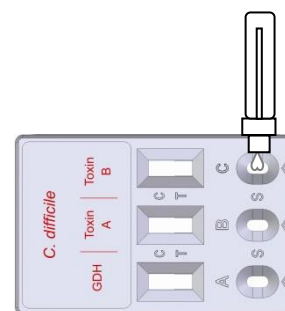
Añadir 4 gotas de la mezcla diluida en cada ventana circular



GDH Test- pocillo A



Toxin A Test- pocillo B



Toxin B Test- pocillo C

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Nota: La intensidad de la línea roja puede variar entre las diferentes tiras de reacción. La aparición de la línea roja de cualquier intensidad, indica un resultado positivo.

Figura 3

	Resultados	Interpretación
1.		<p>GDH, Toxina A and Toxina B son negativas</p> <p>No infección por <i>C. difficile</i>.</p>
2.		<p>GDH positiva. Toxina A and Toxina B son negativas.</p> <p>Indicación de infección por <i>C. difficile</i>.</p>
3.		<p>GDH y Toxina A son positivas. Toxina B es negativa.</p> <p>Indicación de infección por <i>C. difficile</i>. Un análisis más detallado de la muestra por un ensayo CE / FDA se recomienda</p>
4.		<p>GDH y Toxina B son positivas. Toxina A es negativa.</p> <p>Indicación de infección por <i>C. difficile</i></p>
5.		<p>GDH, Toxina A y Toxina B son positivas.</p> <p>Indicación de infección por <i>C. difficile</i>.</p>
6.		<p>GDH y Toxina B son negativas. Toxina A es positiva.</p> <p>Repita la prueba con una muestra fresca. Si el resultado es de nuevo positivo para la toxina A y negativo para GDH, un análisis más detallado de la muestra por un ensayo CE / FDA se recomienda</p>
7.		<p>GDH y Toxina A son negativas. Toxina B es positiva.</p> <p>Repita la prueba con una muestra fresca. Si el resultado es de nuevo positivo para la toxina B y negativo para GDH, un análisis más detallado de la muestra por un ensayo CE / FDA se recomienda</p>
8.		<p>Toxina A y Toxina B son positivas. GDH es negativa.</p> <p>Repita la prueba con una muestra fresca. Si el resultado es de nuevo positivo para la toxina A y toxina B y negativo para GDH, un análisis más detallado de la muestra por un ensayo CE / FDA se recomienda</p>
9.	<p>Cualquier otro resultado</p>	<p>Resultado no válido: A, B o C, repetir la prueba usando una nueva muestra. Si los resultados siguen siendo los mismos se recomienda un análisis más detallado con un ensayo CE/FDA.</p>

NO VÁLIDO: Ausencia total de la banda de control verde en una, dos o las tres pruebas (A / B / C), independientemente de la aparición o no de las líneas de prueba de color rojo en una o ambas pruebas (A / B / C). Notas: cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos son en su mayoría las principales razones del fracaso de las líneas de control. Revise el procedimiento y repita la prueba usando una nueva prueba. Si los síntomas o situación persisten, deje de utilizar el equipo de prueba y contacte con su distribuidor local. Vea la Figura 3 anterior.

NOTA DE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La intensidad de la banda de color rojo en la región de línea de resultado (T) variará dependiendo de la concentración de antígenos en la muestra. Sin embargo, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada mediante esta prueba cualitativa

CONTROL DE CALIDAD

Se han incluido controles internos en el test en forma de líneas verdes que aparecen en la región de la línea control (C). Esto confirma que se ha usado suficiente volumen de muestra y que la técnica se ha realizado correctamente.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El test CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxina A + Toxina B sólo indicará la presencia de GDH, la toxina A y / o B en la muestra (detección cualitativa). Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento en la concentración de antígenos pueden ser determinados por esta prueba.
2. Un exceso de muestra puede dar lugar a resultados incorrectos (aparecen bandas de color marrón). En tal caso, diluir la muestra con el tampón y repita la prueba.
3. Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de las bandas de control.
4. El ensayo deberá llevarse a cabo dentro de las 2 horas de la apertura de la bolsa de aluminio sellada.
5. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección causada por *Clostridium difficile*.
6. Esta prueba proporciona un diagnóstico presuntivo de la infección causada por *Clostridium difficile*. Todos los resultados deben ser interpretados junto con otros hallazgos a disposición del médico, de la información clínica y de laboratorio, y deben ser objeto de seguimiento con técnicas de laboratorio adicionales.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad y Especificidad

Un estudio con muestras de heces de pacientes con diarrea mostró los siguientes resultados: Los resultados de sensibilidad y especificidad obtenidos mediante la prueba CoproStrip™ C. difficile GDH + toxina A + toxina B en comparación con otras pruebas comerciales (prueba IC: C. DIF QUIK CHEK Complete® TechLab) fueron:
Sensibilidad > 99% y una especificidad > 99%.

Sensibilidad Analítica

El cut-off del ensayo fue establecido a una concentración de 0.5ng/ml para la Toxina A, 0.78ng/ml para la Toxina B y 0.39ng/ml para glutamato deshidrogenasa (GDH).

Reactividad cruzada

La evaluación se realizó para determinar la reactividad cruzada del kit CoproStrip™ C. difficile GDH + Toxina A + Toxina B. No hay reactividad cruzada con microorganismos gastrointestinales comunes ocasionalmente presentes en las heces.

- *Campylobacter spp*
- *E. coli O157:H7*
- *Listeria monocytogenes*
- *Helicobacter pylori*
- *Shigella spp.*
- *Salmonella spp*
- *Yersinia spp*
- *Yersinia enterocolitica*

BIBLIOGRAFÍA

1. Cloud J, Kelly CP. Update on *Clostridium difficile* associated disease. *Curr Opin Gastroenterol.* 2007 Jan;23(1):4-9.
2. Owens RC Jr, Donskey CJ, Gaynes RP, Loo VG, Muto CA. Antimicrobial-associated risk factors for *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2008 Jan 15;46 Suppl 1:S19-31.
3. Kelly CP, Pothoulakis C, LaMont JT. *Clostridium difficile colitis.* *N Engl J Med.* 1994 Jan 27;330(4):257-62
4. Voth DE, Ballard JD. *Clostridium difficile* toxins: mechanism of action and role in disease. *Clin Microbiol Rev.* 2005 Apr;18(2):247-63.
5. Savidge TC, Pan WH, Newman P, O'Brien M, Anton PM, Pothoulakis C. *Clostridium difficile* toxin B is an inflammatory enterotoxin in human intestine. *Gastroenterology.* 2003 Aug;125(2):413-20.
6. Pituch H, van den Braak N, van Leeuwen W, van Belkum A, Martirosian G, Obuch-Woszczatyński P, Łuczak M, Meisel-Mikołajczyk F. Clonal dissemination of a toxin-A-negative/toxin-B-positive *Clostridium difficile* strain from patients with antibiotic-associated diarrhea in Poland. *Clin Microbiol Infect.* 2001 Aug;7(8):442-6.
7. Shin BM, Kuak EY, Yoo SJ, Shin WC, Yoo HM., Emerging toxin A-B+ variant strain of *Clostridium difficile* responsible for pseudomembranous colitis at a tertiary care hospital in Korea. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2008 Apr;60(4):333-7.
8. Lysterly DM, Barroso LA, Wilkins TD. Identification of the latex test-reactive protein of *Clostridium difficile* as glutamate dehydrogenase. *J Clin Microbiol.* 1991 Nov;29(11):2639-42.
9. Carman RJ, Wickham KN, Chen L, Lawrence AM, Boone JH, Wilkins TD, Kerkering TM, Lysterly DM. Glutamate dehydrogenase is highly conserved among *Clostridium difficile* ribotypes. *J Clin Microbiol.* 2012 Apr;50(4):1425-6.



Savyon® Diagnostics Ltd.

3 Habosem St. Ashdod 7761003

ISRAEL

Tel.: +972.8.8562920

Fax : +972.8.8523176

E-mail: support@savyondiagnosics.com



Representante Europeo Autorizado: Obelis s.a.

Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Brussels

Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03

E-mail: mail@obelis.net

Symbols for IVD components and Reagents			
	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Authorized representative		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by
	Sample diluent		