

Clostridium K-SeT



www.corisbio.com

IFU-5820/ES/02

Fabricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Producido en BÉLGICA

Prueba rápida de diagnóstico *in vitro* para la detección de Antígenos de *Clostridium difficile* en muestras de heces humanas

PARA USO *IN VITRO*

SOLO PARA USO PROFESIONAL

Referencias: K-1520, 20 pruebas por kit, con método de toma de muestras
K-1220, 20 pruebas por kit, sin método de toma de muestras

ES

I. INTRODUCCIÓN

Clostridium difficile es una bacteria anaerobia que actúa como un patógeno oportunista: crece en el intestino cuando la flora normal se ha visto alterada por un tratamiento con antibióticos. Las cepas toxigenas de *Clostridium difficile* provocan infecciones, desde diarreas leves a colitis pseudomembranosa, que pueden llegar a provocar la muerte.

Dos toxinas producidas por las cepas toxigenas de la *C. difficile* pueden causar esta enfermedad: la toxina A (enterotoxina que daña los tejidos) y la toxina B (citotoxina). Algunas cepas producen ambas toxinas (A y B), otras solo producen la toxina B. Aún se debate la posible función de una tercera toxina (binaria) en lo que respecta a la patogénesis.

Se ha demostrado que el uso de glutamato dehidrogenasa (GDH) como marcador antígeno de la proliferación de la *C. difficile* es muy eficaz, ya que todas las cepas producen una cantidad importante de esta enzima.

El kit de diagnóstico *Clostridium K-SeT* permite la detección específica de GDH de *C. difficile* en muestras de heces. Las muestras que presenten un resultado positivo con el kit *Clostridium K-SeT* deberán investigarse en profundidad para analizar la toxicidad de la bacteria.

II. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Esta prueba está lista para usar y se basa en una tecnología de membrana con oro coloidal. Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos frente a *Clostridium difficile* GDH. La especificidad de la prueba es debida a un anticuerpo monoclonal frente a un antígeno de *Clostridium difficile* GDH que se conjuga con el oro coloidal. Este conjugado se seca en una membrana.

La muestra fecal debe diluirse en el tampón de dilución suministrado con la prueba. Cuando 4 gotas de la fase líquida de la suspensión fecal entran en contacto con la tira, el conjugado solubilizado migra con la muestra mediante difusión pasiva y el conjugado y el material de la muestra entran en contacto con el anticuerpo frente a *Clostridium difficile* adsorbido en la nitrocelulosa. Si la muestra contiene *C. difficile* GDH, el complejo de conjugado y antígeno permanecerá unido al reactivo contra *C. difficile* GDH y aparecerá una línea roja. La solución continúa migrando hasta que se encuentra un segundo reactivo que une el conjugado de control de migración, produciendo así una línea de control roja que confirma que la prueba funciona correctamente. El resultado es visible en 15 minutos.

III. REACTIVOS Y MATERIALES

1. Clostridium K-SeT (20)

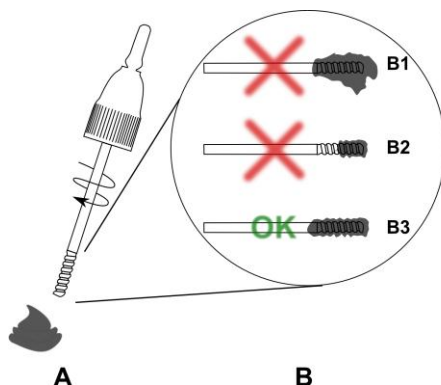
20 sobres sellados que contienen un dispositivo y un desecante. Cada dispositivo contiene una tira sensible.

2. Instrucciones de uso (1)

3. Tampón de dilución ST-A

Solución salina tamponada a un pH de 7,5 que contiene Tris, EDTA, NaN₃ (<0,1%), un detergente y proteínas de bloqueo.

- K-1220: 1 vial (15 mL)
- K-1520: 20 Sistemas de Muestreo Fecal (SMF) (2 mL) con un tornillo de muestreo



Materiales que deben solicitarse por separado:

- Control negativo (Ref.: CTR-1000)

IV. PRECAUCIONES ESPECIALES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- Todos los reactivos son sólo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- El sobre debe abrirse con cuidado
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Al manipular las pruebas, utilice guantes.
- No utilice nunca los reactivos de otro kit.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunorreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se puede garantizar tras el vencimiento del período de caducidad o si los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.

V. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente

VI. CONSERVACIÓN

- Un sobre sin abrir se puede mantener entre 4 y 30 °C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase. Una vez abierto el sobre, realice la prueba inmediatamente.
- Evite congelar los accesorios y el tampón.

VII. MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras de heces deben procesarse lo más rápidamente posible después de recogerlas. Si es necesario, se pueden almacenar entre 2 y 8°C durante una semana o a -20°C durante períodos de tiempo más prolongados.

Asegúrese de que las muestras no se tratan con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VIII. PROCEDIMIENTO

Preparativos para la prueba:

Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30 °C) antes de realizar una prueba.

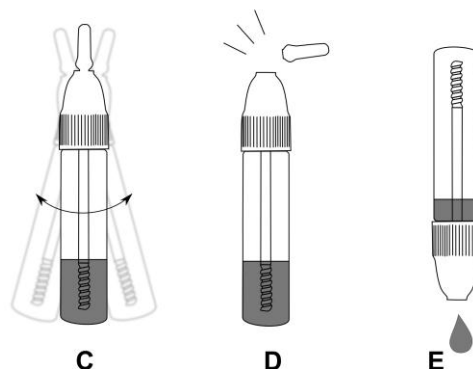
Abra el sobre y extraiga el dispositivo. Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el dispositivo (un dispositivo por muestra).

Procedimiento de preparación de la muestra con el SMF (K-1520):

1. Abra el tubo del Sistema de Muestreo Fecal (SMF) y utilice el tornillo para recoger la muestra de heces (A). **La relación de dilución debe ser del 4% de p/v aproximadamente.** Tenga cuidado de no recoger una cantidad excesiva (B1) o insuficiente (B2) de muestra. Para las muestras líquidas o semilíquidas, vierta 80 µL de la muestra con una pipeta (no suministrada) en el vial de SMF.
2. Inserte el tornillo en el SMF y apriete la tapa. Agite el preparado para homogeneizarlo (C). Toda la muestra de heces debe diluirse en la solución.
3. Rompa la punta de la tapa (D) y vierta 4 gotas de la muestra diluida en el pocillo para muestras del dispositivo, como se ilustra a continuación. Para asegurar un vertido adecuado, el vial del SMF debe sujetarse **verticalmente** (E).

Procedimiento de preparación de la muestra (K-1220):

1. Añada 0,5 mL o 15 gotas de la solución del tampón de dilución en un tubo.
2. Sumerja un asa que contenga la muestra de heces en el tubo. **La relación de dilución debe ser del 4% de p/v aproximadamente.** Para las muestras líquidas, coja 2 asas de 10 µL; para las muestras sólidas, coja 1 asa.
3. Deseche el asa de muestreo.
4. Agite el preparado para homogeneizarlo. Toda la muestra de heces debe diluirse en la solución.
5. Vierta lentamente 100 µL de la muestra diluida en el pocillo para muestras del dispositivo, como se ilustra más adelante.



Deje que reaccione durante 15 minutos. Los resultados pueden observarse en la ventana de lectura. Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez sobrepasado el tiempo de reacción.

Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

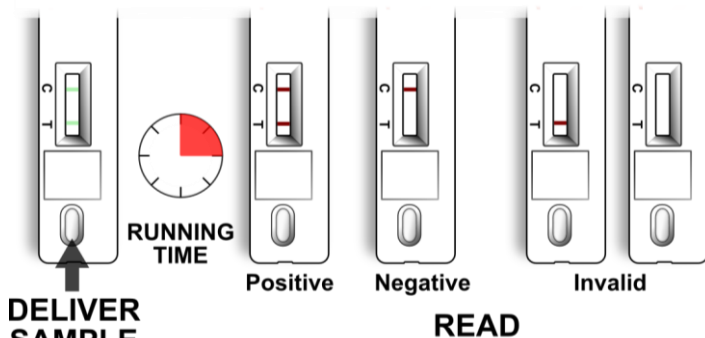
IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados se deben interpretar del modo siguiente:

Resultado negativo de la prueba: aparece una línea roja purpúrea en un extremo de la ventana central de lectura en la posición de la línea de control (C). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda roja purpúrea en la línea de control (C), aparece una banda roja purpúrea visible en la posición de la línea de prueba (T). La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea (T) roja purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no válidas con un nuevo dispositivo de prueba.



Nota: durante el proceso de secado, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda comprobar periódicamente el rendimiento de las pruebas en función de los requisitos del laboratorio. Vierta 100 µL de control preparado (consulte las instrucciones de uso de CTR-1000) en el pocillo para muestras del dispositivo.

XI. RESULTADOS

A. Límite de detección

El límite de detección se evaluó diluyendo una preparación de GDH purificada, y los resultados demuestran que la concentración de proteína detectada es de 1 ng/mL.

B. Sensibilidad - Especificidad (correlación):

1º Se llevó a cabo una evaluación en 318 muestras de heces humanas. Los resultados se compararon con los obtenidos mediante un método de cultivo convencional en un laboratorio de referencia nacional (Bélgica).

Método de cultivo	Positiva	Negativa	Total
Coris BioConcept			
Positiva	75	17	92
Negativa	0	226	226
Total	75	243	318

95% Intervalo de confianza¹

Sensibilidad:	100%	(93.9 - 100%)
Especificidad:	93%	(88.8 - 95.7%)
Valor predictivo positivo:	81.5%	(71.8 - 88.6%)
Valor predictivo negativo:	100%	(97.9 - 100%)
Fiabilidad:	94.7%	(301/318)

2º El kit también se validó internamente, mediante la comparación con un método de EIA en 65 muestras de heces humanas. Se obtuvieron los resultados siguientes:

EIA	Positiva	Negativa	Total
Coris BioConcept			
Positiva	41	0	41
Negativa	1	23	24
Total	42	23	65

95% Intervalo de confianza

Sensibilidad:	97.6%	(85.9 - 99.9%)
Especificidad:	100%	(82.2 - 100%)
Valor predictivo positivo:	100%	(89.3 - 100%)
Valor predictivo negativo:	95.8%	(76.9 - 99.8%)
Fiabilidad:	98.5%	(64/65)

3º Se llevó a cabo una evaluación en 100 muestras de heces humanas. Los resultados se compararon con los de una prueba ICT de la competencia.

ICT competidor	Positiva	Negativa	Total
Coris BioConcept			
Positiva	7	1	8
Negativa	0	92	92
Total	7	93	100

95 % Intervalo de confianza

Sensibilidad:	100 %	(56.1 - 100 %)
Especificidad:	98.9 %	(93.3 - 99.9 %)
Valor predictivo positivo:	87.5 %	(46.7 - 99.3 %)
Valor predictivo negativo:	100 %	(95 - 100 %)
Fiabilidad:	99 % (99/100)	

C. Precisión

Para verificar la precisión dentro de un mismo lote, se procesaron 15 veces las mismas muestras positivas y una solución de tampón de kits del mismo lote de producción, bajo las mismas condiciones experimentales. Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto.

Para verificar la precisión entre los lotes, se procesaron algunas muestras (positivas y de tampón) en kits de tres lotes de producción diferentes. Todos los resultados se confirmaron según lo previsto.

D. Interferencias

Se analizó la reactividad cruzada de muestras positivas para los patógenos siguientes y se demostró que era negativa: *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Escherichia hermanni*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella longbeachae*, *Legionella pneumophila* (sg1), *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria meningitidis* (sg B & C), *Neisseria sicca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (Gr B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Ureaplasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (type1, 3, 9).

XII. LÍMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes.

XIII. PROBLEMAS TÉCNICOS / RECLAMACIONES

Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. Ramadass Balamurugan, 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
- B. 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 suppl 6, p. 2-18, Oct. 2006
- C. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T.Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
- D. 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
- E. 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.
- F. 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
- G. Leyerly M. et al: *characterisation of a toxinA-negative, toxinB-positive strain of clostridium difficile*, Infection and immunity, p. 4633-4639 Nov.1992
- H. Shetty N., Wren MW., Coen PG.: *The role of glutamate dehydrogenase for the detection of Clostridium difficile in faecal samples: a meta-analysis*, Journal of Hospital Infections, 77(1), p. 1-6, Jan. 2001.

Última actualización: SEPTIEMBRE 2012

REF	Número de catálogo	Fabricado por
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro	Límites de temperatura
Σ	Contenido suficiente para <n> pruebas	DIL SPE Diluyente (Muestra)
📖	Consulte las instrucciones de uso	No reutilizar
☀	Mantenga en lugar seco	Fecha de caducidad
DIL AS	Diluyente (Ensayo)	CONT Na ₂ S ₂ O ₃ Contiene azida sódica

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).