TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

USO PREVISTO

El test TECHLAB® *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* es un enzimoinmunoensayo rápido de membrana para la detección simultánea del antígeno glutamato deshidrogenasa de *Clostridium difficile* y de toxinas A y B en un mismo pocillo de reacción. El test detecta el antígeno de *C. difficile*, la glutamato deshidrogenasa, como criba para detectar la presencia de *C. difficile* y confirma la presencia de *C. difficile* toxigénica a través de la detección de las toxinas A y B en muestras fecales de personas sospechosas de padecer una enfermedad causada por *C. difficile*. El test debe utilizarse como ayuda para el diagnóstico de la enfermedad causada por *C. difficile*. Como ocurre con otros tests para *C. difficile*, los resultados deben evaluarse siempre junto con los antecedentes del paciente.

FUNDAMENTO

Después del tratamiento con antibióticos, muchos pacientes sufren problemas gastrointestinales que varían entre la diarrea leve y la colitis pseudomembranosa grave. Gran parte de los casos más leves de enfermedad gastrointestinal y la mayoría de los casos de colitis pseudomembranosa están causados por cepas toxigénicas de *Clostridium difficile* (1). Este microorganismo es una bacteria anaerobia oportunista que crece en el intestino cuando la flora normal es alterada por un antibiótico. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* son portadoras de los genes que codifican las toxinas mientras que las cepas no toxigénicas no contienen estos genes de toxinas. La aparición de la enfermedad está asociada a las toxinas producidas por el microorganismo toxigénico. Se cree que los síntomas clínicos asociados a la enfermedad están causados principalmente por la toxina A, una enterotoxina que lesiona los tejidos (2,3). *C. difficile* también produce una segunda toxina, denominada toxina B. La toxina B, mencionada como la citotoxina del microorganismo, se detecta mediante los análisis de cultivos tisulares que se utilizan actualmente en numerosos laboratorios. Las cepas toxigénicas de *C. difficile* producen ambas toxinas o sólo la toxina B (4-7). La glutamato deshidrogenasa de *C. difficile* es un buen marcador antigénico del microorganismo en las heces, porque lo producen en grandes cantidades tanto las cepas toxigénicas como las no toxigénicas (8-10). El antígeno puede detectarse en las muestras fecales con el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Un resultado positivo del test para la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile* confirma la presencia de este microorganismo en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia del microorganismo. A su vez, un resultado positivo en el ensayo para las toxinas A y B confirma la presencia de *C. difficile* toxigénica.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* utiliza anticuerpos específicos frente a la glutamato deshidrogenasa y las toxinas A y B de *C. difficile*. El dispositivo contiene una ventana de reacción con tres líneas verticales con anticuerpos inmovilizados. La línea de antígeno ("Ag") del test contiene anticuerpos frente a la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile*. La línea de control ("C") es una línea de puntos que contiene anticuerpos anti-peroxidasa de rábano picante (HRP). La línea de toxinas A y B ("Tox") del test contiene anticuerpos frente a las toxinas A y B de *C. difficile*. El *conjugado* consiste en anticuerpos frente a la glutamato deshidrogenasa y anticuerpos frente a las toxinas A y B unidos a la peroxidasa de rábano. Para realizar el test, la muestra se añade a un tubo que contiene una mezcla de *diluyente* y *conjugado*. La mezcla muestra-conjugado diluida se añade al *pocillo de muestra* y el dispositivo se incuba a temperatura ambiente durante 15 minutos. Durante la incubación, cualquier cantidad de glutamato deshidrogenasa y de toxinas A y B presente en la muestra se une a los conjugados anticuerpo-peroxidasa. Los complejos antígeno-anticuerpo-conjugado migran a través de un filtro almohadillado a una membrana donde los captan los anticuerpos específicos de la glutamato deshidrogenasa y las toxinas A y B inmovilizados en las líneas. A continuación, se lava la *ventana de reacción* con *tampón de lavado*, seguido por la adición de *sustrato*. Tras una incubación de 10 minutos, se comprueba visualmente en la reacción "Ag" la aparición de una línea azul vertical en el lado "Ag" de la *ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Si el "Ag" es positivo, entonces debe comprobarse visualmente en la reacción "Tox" si aparece una línea azul en el lado "Tox" de la *ventana de reacción*. La presencia de una línea azul indica un resultado positivo. Una reacción positiva "C", indicada por una línea azul de puntos vertical bajo la parte "C" de la *ventana de reacción* confirma que el test funciona adecuadamente y que los resultados son válidos.

ES

MATERIALES SUMINISTRADOS

MEM | DEV — ***Dispositivos de membrana*** – cada bolsa contiene 1 dispositivo

DIL | SPE — ***Diluyente* (22 ml por frasco)** – Solución tamponada proteínica con cuentagotas graduado (contiene ProClin® 300 al 0,05%)* ⚠

WASH | REAG — ***Tampón de lavado* (12 ml por frasco)** – Solución tamponada con cuentagotas graduado (contiene ProClin® 300 al 0,05%)* ⚠

SUBS | REAG — ***Sustrato* (3,5 ml por frasco)** – Solución con tetrametilbenzidina

CONJ | ENZ — ***Conjugado* (2,5 ml por frasco)** – Anticuerpo monoclonal de ratón específico para la glutamato deshidrogenasa unida a peroxidasa de rábano picante y anticuerpos policlonales de cabra específicos para las toxinas A y B unidos a peroxidasa de rábano picante en una solución tamponada proteínica (contiene ProClin® 300 al 0,05%)* ⚠

CONTROL | + — ***Control positivo* (2 ml)** – Antígeno en una solución tamponada proteínica

Pipetas de plástico desechables – graduadas a 25 µL, 400 µL y 500 µL

IVD — Para uso diagnóstico *in vitro*

*Palabra de advertencia: Advertencia
H317: Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261, P272, P280, P302, P352, P333, P313, P321, P362, P364, P501

MATERIALES Y EQUIPAMIENTO NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

Tubos de ensayo pequeños (p. ej., tubos de plástico Eppendorf o tubos de vidrio)
Varillas aplicadoras — *Cronómetro* — *Mezclador de tipo vórtex*
Guantes desechables para manipular las muestras fecales — *Pipeta y puntas de pipeta*

PERÍODO DE VALIDEZ Y CONSERVACIÓN

La fecha de caducidad del kit se indica en la etiqueta. Las fechas de caducidad de los componentes se indican en sus correspondientes etiquetas. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

PRECAUCIONES

1. No deben mezclarse ni intercambiarse reactivos de kits diferentes. No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
2. Cada componente del kit debe inspeccionarse por cualquier posible signo de fugas. A su recepción, se inspeccionará el kit para comprobar que los componentes no están congelados ni calientes al tacto debido a condiciones de envío inadecuadas.
3. ANTES DEL USO, deje que todos los componentes alcancen la TEMPERATURA AMBIENTE.

LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933

4. Los tapones, las puntas y los cuentagotas están codificados con colores y NO deben mezclarse.
5. No congele los reactivos. El kit debe conservarse a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
6. La bolsa que contiene el *dispositivo de membrana* debe estar a temperatura ambiente antes de abrirse. Mantenga secos los dispositivos de membrana antes de su uso.
7. Para obtener unos resultados óptimos las muestras fecales deben analizarse en un plazo no superior a 72 horas desde su recogida. Las muestras congeladas pueden perder su actividad como consecuencia de los procesos de congelación y descongelación. Si se utilizan muestras congeladas, descongele a temperatura ambiente.
8. Cuando añada los reactivos, sujete los frascos de los reactivos en posición vertical con el fin de asegurar que el tamaño de las gotas sea consistente y que el volumen sea correcto.
9. Las muestras y los dispositivos de membrana deben manipularse y eliminarse después del uso como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
10. Los dispositivos de membrana no pueden volver a utilizarse.
11. La prueba se ha optimizado para mejorar la sensibilidad y la especificidad. Las alteraciones del procedimiento especificado y/o de las condiciones de la prueba pueden afectar a su sensibilidad y especificidad. No se desvíe del procedimiento especificado.
12. Preste atención al tiempo total del análisis cuando realice la prueba con más de una muestra fecal. Añada primero el *diluyente* y a continuación añada el *conjugado* a cada tubo de *diluyente*. Después añada la muestra al tubo de *diluyente/conjugado*. Mezcle bien todas las muestras diluidas y, a continuación, transfiéralas al *dispositivo de membrana*. El paso de incubación de 15 minutos comienza después de que se haya transferido la última mezcla de muestra-conjugado diluida al *Dispositivo de membrana* final.
13. Si el reactivo del *sustrato* adquiere un color azul oscuro/violeta, avise al Servicio técnico para su sustitución.
14. Las muestras fecales pueden contener agentes potencialmente infecciosos y deben manejarse en un "Nivel de Bioseguridad 2", tal como se recomienda en el Manual de los CDC/NIH, "Bioseguridad en Laboratorios Microbiológicos y Biomédicos".
15. Todos los reactivos son exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
16. Utilice guantes desechables para realizar la prueba.
17. Los reactivos contienen ProClin® 300 al 0,05% como conservante. Aunque la concentración es baja, se sabe que ProClin® 300 es nocivo. En caso de irritación o erupción cutánea, consultar a un médico. Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas. Manejar los reactivos de acuerdo con las normas existentes de seguridad de laboratorio y buenas prácticas de laboratorio. Se dispone de fichas de datos de seguridad de este producto bajo pedido, consultar al soporte técnico.
18. Siga las normas nacionales, regionales y locales para consultar los reglamentos de eliminación de residuos.

RECOGIDA, MANIPULACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS FECALES

Tipos de muestra aceptables	No utilizar
Muestras fecales recientes	Muestras fecales con fijación basada en formol (p. ej., formol acetato sódico, formol al 10%, formol mertiolato)
Muestras fecales congeladas	Muestras fecales en fijación basada en alcohol (p. ej., alcohol polivinílico)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	

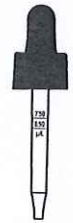
Almacenamiento de la muestra Temperatura	Duración aceptable del almacenamiento	Comentarios
2 °C – 8 °C	72 horas	Las muestras perfectas tienen menos de 24 horas
Congelado a ≤ -10°C	Más de 72 horas	Descongelar a temperatura ambiente. La realización de múltiples ciclos de congelación y descongelación puede provocar la pérdida de actividad de la muestra debida a la degradación de la toxina.

1. Los procedimientos internos estándar de recogida y manipulación de las muestras fecales son adecuados.
2. Las muestras fecales deben recogerse en recipientes limpios, a prueba de fugas.
3. NO se recomienda conservar las muestras fecales en el *Diluyente*.
4. No permita que las muestras fecales permanezcan en la mezcla de *diluyente/conjugado* durante más de 24 horas.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

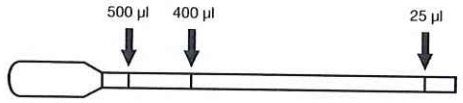
1. Espere hasta que todos los reactivos y el número de dispositivos que sean necesarios se encuentren a temperatura ambiente antes de su uso. Se recomienda retirar los reactivos de la tira de espuma para reducir el tiempo necesario para calentarlos a temperatura ambiente.
2. Asigne e identifique un tubo de ensayo pequeño para cada muestra así como controles externos opcionales según sea necesario.
3. Añada 750 µl de *diluyente* (2' graduación desde la punta) a cada tubo de muestras fecales utilizando el cuentagotas graduado negro. **En el caso de muestras en medios de transporte como Cary Blair o C&S, añada 650 µl (1' graduación desde la punta) de *diluyente* al tubo.**

Tipo de muestra	Volumen de *diluyente*
Muestras fecales recientes	750 µl (2' graduación desde la punta)
Muestras fecales congeladas (congeladas sin diluir)	750 µl (2' graduación desde la punta)
Muestras en medios de transporte (Cary Blair, C&S)	650 µl (1' graduación desde la punta)
Controles externos (positivos y negativos)	750 µl (2' graduación desde la punta)



4. Añada una gota de *conjugado* (frasco con tapón rojo) a cada tubo.
5. Utilice una pipeta de plástico desechable (suministrada con el kit) para cada muestra – las pipetas tienen graduaciones a 25 µl, 400 µl y 500 µl.

Pipeta graduada:



ES

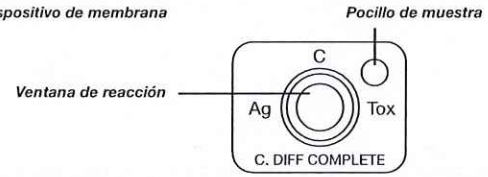
LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933

6. **Mezcle bien todas las muestras independientemente de su consistencia ya que es muy importante obtener una suspensión homogénea de las muestras antes de transferirlas.**
   Muestras líquidas/semisólidas – Pipetee 25 µl de muestra con una pipeta (aquí hemos borrado el paréntesis) y añádala a la mezcla de *diluyente/conjugado*. Utilice la misma pipeta para mezclar la muestra diluida.
   Muestras formadas/sólidas – Es preciso tener cuidado para añadir el volumen correcto de heces formadas a la mezcla de muestra. Mezcle bien la muestra con una varilla aplicadora de madera y transfiera una parte pequeña (aproximadamente de 2 mm de diámetro, el equivalente de 25 µl) de la muestra a la mezcla de diluyente/conjugado. Emulsione la muestra con la varilla aplicadora.
   Muestras fecales en medios de transporte Cary Blair o C&S - Pipetee 100 µl (2 gotas de la pipeta) de muestra a la mezcla de *diluyente/conjugado*.
7. **Muestras opcionales de control externo:**
   Control positivo externo - Añada una gota de *control positivo* (frasco con tapón gris) a la mezcla de *diluyente/conjugado*.
   Control negativo externo - Añada 25 µL de *diluyente* a la mezcla de *diluyente/conjugado*.

NOTA: Si se transfiere una cantidad muy reducida de muestra o si no se mezcla y se suspende completamente la muestra en la mezcla de diluyente/conjugado puede obtenerse un resultado falso negativo en la prueba. Si se añade una cantidad excesiva de heces, pueden obtenerse resultados no válidos debido al reducido flujo de la muestra.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Obtenga un *dispositivo de membrana* por muestra y un dispositivo para el control positivo o negativo externo opcional, según sea necesario. Las bolsas de papel de aluminio que contienen los dispositivos deben estar a temperatura ambiente antes de proceder a su apertura. Utilice el dispositivo inmediatamente después de abrir. Identifique los dispositivos de forma apropiada y oriéntelos en una superficie plana de forma que la inscripción "C. DIFF COMPLETE" del dispositivo se encuentre en el fondo del mismo y el pocillo de muestra pequeño se encuentre en la esquina superior derecha del dispositivo.



2. Cierre cada tubo de muestra diluida y mézclelo bien. Mezcle adecuadamente con vórtex o invirtiendo el tubo. Una vez diluida la muestra de paciente o el *control positivo* en la mezcla de *diluyente/conjugado*, esta puede incubarse a temperatura ambiente durante cualquier período de tiempo hasta 24 horas antes de la adición al *dispositivo de membrana*.
3. Utilice una nueva pipeta, transfiera 500 µl de la mezcla de muestra-conjugado diluida al ***pocillo de muestra*** (orificio más pequeño en la esquina superior derecha del dispositivo) de un *dispositivo de membrana* y asegúrese de que expulsa la muestra líquida en la almohadilla de absorción del interior del *dispositivo de membrana*. Cuando cargue la muestra en el pocillo, compruebe que la punta de la pipeta está angulada hacia la *ventana de reacción* (orificio mayor en el centro del dispositivo).
4. Incube el dispositivo a temperatura ambiente durante 15 minutos – la muestra se absorberá a través del dispositivo y el área húmeda se extenderá en la *ventana de reacción*.

ES

NOTA PARA LAS MUESTRAS QUE NO MIGRAN:
Ocasionalmente, una muestra diluida no migra adecuadamente y la ventana de reacción no se humedece completamente. Si la ventana de reacción no aparece completamente húmeda en el plazo de 5 minutos después de añadir la muestra al pocillo, añada 100 µl (4 gotas) de diluyente al pocillo y espere otros 5 minutos (para un total de 20 minutos).

5. Después de la incubación, añada 300 µl de *solución de tampón de lavado* a la ***ventana de reacción*** utilizando el cuentagotas blanco graduado. Deje que la *solución de lavado* penetre en la membrana de la ventana de reacción y se absorba completamente.
6. Añada 2 gotas de *sustrato* (frasco con tapón blanco) a la ***ventana de reacción***. Lea y anote los resultados observados después de 10 minutos.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. La interpretación del test es más fiable cuando se lee el dispositivo inmediatamente después del periodo de reacción de 10 minutos. Lea el dispositivo a una distancia normal en una zona bien iluminada. Dirija la mirada a la línea de visión situada directamente sobre el dispositivo.
2. Observe la aparición de puntos azules en el centro de la *ventana de reacción* que representa el control positivo interno. La presencia de cualquier punto de control representa un control interno válido. El fondo puede mostrarse de color blanco a azul claro. Observe la aparición en el dispositivo de líneas azules en los lados "Ag" y Tox" de la *ventana de reacción* que representan las líneas de test. El color de las líneas puede ser débil o intenso.
3. **Resultado positivo de antígeno ("Ag"):** Un resultado positivo de antígeno puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. Para que un resultado de antígeno sea positivo deben ser visibles la línea azul "Ag" y la línea de control de puntos azules debajo de "C" (Figura 1a). El color de las líneas puede ser débil o intenso. Una línea parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de *C. difficile*.
4. **Resultado positivo de antígeno y toxina ("Tox"):** Si el resultado de antígeno es positivo (es decir, están visibles la línea azul "Ag" y la línea de control de puntos azules debajo de "C"), pase a interpretar el resultado de la toxina. Un resultado positivo para la toxina puede interpretarse en cualquier momento entre la adición del *sustrato* y el tiempo de lectura de 10 minutos. En caso de resultado positivo de toxina resulta visible una línea azul "Tox" (Figura 1b). La línea puede tener una intensidad débil o intensa. Una línea parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo. No interprete la decoloración de la membrana como un resultado positivo. Un resultado positivo indica la presencia de las toxinas de *C. difficile*.
5. **Resultado negativo:** Un test no puede interpretarse como negativo o no válido hasta 10 minutos después de la adición del *sustrato*. Se observa una única línea azul de puntos en el centro de la *ventana de reacción*, debajo de "C" y no hay líneas de test visibles en el lado "Ag" o en el lado "Tox" de la *ventana de reacción* (Figura 1d). Un resultado negativo en la parte de antígeno indica que el antígeno de *C. difficile* está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test. Un resultado negativo en la parte de toxina indica que la toxina de C. difficile está ausente en la muestra o está por debajo del límite de detección del test.
6. **Resultado no válido:** No hay líneas visibles en la ventana de reacción (Figura 1d). El resultado del test no es válido si no se encuentra presente una línea de de puntos azules debajo de "C" al terminar el período de reacción (Figuras 1e, 1f, 1g).
7. **Antígeno ("Ag") negativo, toxina ("Tox") positiva:** Un reducido porcentaje de muestras pueden dar resultado negativo para el antígeno pero positivo para la toxina. Estas muestras deberán ser consideradas como indeterminadas y analizadas de nuevo utilizando una muestra fresca (Figura 1h). Si el nuevo análisis da negativo para antígeno pero positivo para toxina, clasifíquelo como un resultado positivo para toxina.

LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933

FIGURA 1: INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

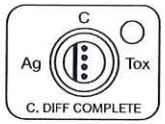


Figura 1a
Resultado positivo de antígeno

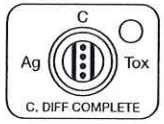


Figura 1b
Resultado positivo de antígeno y toxina

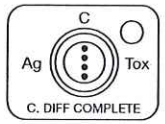


Figura 1c
Resultado negativo

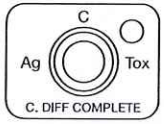


Figura 1d
Resultado no válido

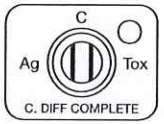


Figura 1e
Resultado no válido

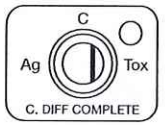


Figura 1f
Resultado no válido

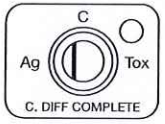


Figura 1g
Resultado no válido

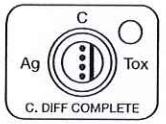


Figura 1h
Ver el punto 7 para la interpretación

CONTROL DE CALIDAD

Interno: Debe observarse una línea azul de puntos en el centro de la *ventana de reacción*, debajo de "C" en cada *dispositivo de membrana* que se estudie. La aparición de los puntos azules de control confirma que se han añadido correctamente la muestra y los reactivos, que los reactivos estaban activos durante la realización del análisis y que la mezcla ha migrado adecuadamente a través del *dispositivo de membrana*. Confirma también la reactividad de los otros reactivos asociados al ensayo. Un fondo transparente en el área de resultados se considera como un control negativo interno. Si el test se ha realizado adecuadamente y los reactivos funcionan correctamente, el fondo será blanco para dar un resultado apreciable.

Externo: La reactividad del kit *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* debe comprobarse al recibir el kit usando el *Control positivo* y el control negativo (*Diluyente*). El *control positivo* se suministra con el kit (frasco con tapón gris). El *control positivo* se utiliza para verificar la reactividad de los demás reactivos del ensayo y su objetivo no es asegurar la precisión del punto de corte del ensayo. El *Diluyente* se utiliza para el control negativo. Pueden realizarse tests adicionales con los controles para cumplir los requisitos administrativos locales, regionales o federales y los de los organismos de acreditación.

LIMITACIONES

1. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se utiliza para detectar el antígeno y la(s) toxina(s) de C. difficile en muestras fecales. El test confirma la presencia de toxinas en heces y esta información deberá ser analizada por el médico junto con la anamnesis y la exploración física del paciente. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detecta niveles de la toxina A a ≥0,63 ng/ml, de la toxina B a ≥0,16 ng/ml y de la glutamato deshidrogenasa a ≥0,8 ng/ml.
2. Las muestras fecales son muy complejas. Los resultados óptimos en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se obtienen con muestras recogidas en las 24 horas previas. La mayoría de las muestras no diluidas pueden conservarse entre 2 y 8 °C durante 72 horas antes de que se produzca una degradación significativa de las toxinas. Si las muestras no se pueden analizar en este plazo de tiempo, se pueden congelar y posteriormente descongelar. Sin embargo, si las muestras se congelan y descongelan varias veces, puede perderse la inmunorreactividad del antígeno y de las toxinas A y B.
3. En algunas muestras pueden obtenerse reacciones débilmente positivas. Esto puede deberse a diversos factores como la presencia de niveles bajos de antígeno y/o toxina o a la presencia de sustancias fijadoras o enzimas inactivadoras en las heces. El color de las líneas puede ser débil o intenso. Estas muestras se deben clasificar como positivas si se ve una línea azul, incluso si es parcialmente visible. Una línea azul parcialmente visible se interpreta como un resultado positivo
4. No pueden utilizarse muestras fecales conservadas en formol al 10%, formol-mertiolato, formol-acetato sódico o alcohol polivinílico.
5. El test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* es un test cualitativo. La intensidad del color no debe interpretarse cuantitativamente.
6. Algunos aislamientos de *C. sordellii* pueden reaccionar en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* debido a la producción de toxinas inmunológicamente relacionadas (1).
7. En niños se han descrito índices de colonización de hasta el 50%. Se ha descrito también un elevado índice de colonización en pacientes con fibrosis quística (1,3). En estos grupos, los resultados pueden parecer positivos aunque deben evaluarse teniendo en cuenta la posibilidad de que sean portadores colonizados.
8. El único microorganismo no de *C. difficile* que reaccionó en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue *Clostridium sordellii* VPI 9048. Esta cepa produce las toxinas HT y LT que son homólogas a la toxina A y la toxina B, respectivamente.
9. No existen datos sobre los efectos de los lavados de colon, enemas de bario, laxantes o preparados para colonoscopia en el rendimiento del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. Todos estos procedimientos pueden causar una amplia dilución o la presencia de aditivos que pueden afectar al rendimiento del test.

VALORES ESPERADOS

La enfermedad por *Clostridium difficile* es sobre todo una enfermedad nosocomial que afecta a pacientes de edad avanzada y su frecuencia depende de factores como el tipo de paciente, el tipo de institución y factores epidemiológicos. La incidencia de la enfermedad por *C.difficile* en pacientes con diarrea asociada al uso de antibióticos puede variar entre el 5 y 20% y algunos hospitales pueden presentar tasas superiores o inferiores a este intervalo. Es importante interpretar cualquier resultado junto con los síntomas clínicos, porque en algunos adultos sanos y un gran número de niños sanos (hasta el 50%) se obtienen resultados positivos para la toxina de *C. difficile*. Además, en pacientes con fibrosis quística se han descrito índices de portadores de *C. difficile* de entre el 22% y el 32% (1,3). En los estudios realizados para este dispositivo con pacientes sintomáticos la incidencia de toxinas A y B fue del 12% y la de GDH del 18%. Un resultado positivo en la parte de antígeno con el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma la presencia de *C. difficile* en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia del microorganismo. Un resultado positivo en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* confirma la presencia de la toxina de *C. difficile* en una muestra fecal, mientras que un resultado negativo indica la ausencia de la toxina o unos niveles de toxina insuficientes para su detección.

ES

LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Evaluación clínica de la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Se comparó la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con un cultivo bacteriano. Las muestras incluidas en la valoración fueron enviadas a laboratorios clínicos para los análisis de rutina. El test del cultivo bacteriano se realizó de acuerdo con los procedimientos internos. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el cultivo bacteriano

n = 1126	Cultivo bacteriano Positivo	Cultivo bacteriano Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	201	62
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	21	842

		Límites de confianza del 95 %
Sensibilidad	90,5%	85,7 – 93,9
Especificidad	93,1%	91,2 – 94,7
Valor predictivo positivo	76,4%	70,7 – 81,3
Valor predictivo negativo	97,6%	96,2 – 98,4
Correlación	92,6%	91,8 – 93,4

Las muestras discrepantes fueron evaluadas utilizando ensayos ELISA actuales para la glutamato deshidrogenasa de *C. difficile*.
Veintinueve de las 62 muestras falso positivas dieron positivas con otra prueba GDH y se consideraron como verdaderas positivas.
Trece de las 21 muestras falso negativas dieron negativas con otra prueba GDH y se consideraron como verdaderas negativas.

Se comparó la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular para detectar la toxina de C. difficile. Las muestras incluidas en la valoración fueron enviadas a laboratorios clínicos para los análisis de rutina. Los resultados se presentan en la Tabla 2. La parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* detectó el 98,7% de las muestras con resultado positivo en el cultivo tisular.

Tabla 2. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular

n = 1126	Cultivo tisular Positivo	Cultivo tisular Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	154	109
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	2	861

ES

Evaluación clínica de la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

Se comparó la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular en dos laboratorios clínicos y en un laboratorio interno de TECHLAB®, Inc. Las muestras incluidas en la evaluación se remitieron a los laboratorios clínicos para realizar los análisis rutinarios. Los resultados se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resumen del rendimiento clínico en la comparación del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* con el ensayo de cultivo tisular

n = 1126	Cultivo tisular Positivo	Cultivo tisular Negativo
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina positiva	137	6
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina negativa	19	964

		Límites de confianza del 95 %
Sensibilidad	87,8%	81,4 - 92,3
Especificidad	99,4%	98,6 - 99,7
Valor predictivo positivo	95,8%	90,7 - 98,3
Valor predictivo negativo	98,1%	96,9 - 98,8
Correlación	97,8%	97,6 - 98,0

Las muestras discrepantes fueron evaluadas utilizando tests ELISA actuales para toxinas A y B.
Cinco de las 6 muestras falso positivas dieron positivas con ELISA y se consideraron como verdaderas positivas.
Doce de las 19 muestras falso negativas dieron negativas con ELISA y se consideraron como verdaderas negativas.

EFECTO DE LA CONSISTENCIA DE LA MUESTRA FECAL

Efecto de la consistencia de la muestra fecal en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*

En las Tablas 4 y 5 se muestra la reacción de las muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de antígeno (n=978) y la parte de toxina (n=981) del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*. El porcentaje de reacciones positivas tanto en el ensayo de cultivo como en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue similar en los tres tipos de muestras fecales (líquidas, semi-sólidas y sólidas). Todas las muestras se remitieron para el análisis de C. difficile en las mismas. El motivo del envío de las muestras para la realización del test era la anamnesis del paciente y no la consistencia de las heces. En la parte de antígeno, los resultados demuestran que el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* funcionó de forma similar al cultivo bacteriano cuando se analizaron muestras con consistencias diferentes. En la parte de toxina, los resultados demuestran que el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* funcionó de forma similar al ensayo de cultivo tisular cuando se analizaron muestras con consistencias diferentes.

LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933

Tabla 4. **Reacción de muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de antígeno del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®***

Número de muestras (n = 978)	Muestras líquidas (n = 335)	Muestras semisólidas (n = 522)	Muestras sólidas (n = 121)
Positivas mediante el ensayo de cultivo bacteriano	59 (17,6%)	110 (21,1%)	19 (15,7%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno positiva	72 (21,5%)	128 (24,5%)	25 (20,7%)
Negativas mediante el ensayo de cultivo bacteriano	276 (82,4%)	412 (78,9%)	102 (84,3%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de antígeno negativa	263 (78,5%)	394 (75,5%)	96 (79,3%)

Tabla 5. **Reacción de muestras fecales de diferentes consistencias en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®***

Número de muestras (n = 981)	Muestras líquidas (n = 336)	Muestras semisólidas (n = 523)	Muestras sólidas (n = 122)
Positivas mediante el ensayo de cultivo tisular	43 (12,8%)	81 (15,5%)	8 (6,6%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina positiva	42 (12,5%)	72 (13,8%)	7 (5,7%)
Negativas mediante el ensayo de cultivo tisular	293 (87,2%)	442 (84,5%)	114 (93,4%)
C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE® Línea de toxina negativa	294 (87,5%)	451 (86,2%)	115 (94,3%)

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El corte para la valoración se estableció a concentraciones de 0,63 ng/ml para la toxina A, de 0,16 ng/ml para la toxina B y de 0,8 ng/ml para la glutamato deshidrogenasa.

REPRODUCIBILIDAD

La reproducibilidad del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* se determinó utilizando 12 muestras fecales codificadas para evitar su identificación durante los análisis. El análisis se realizó en 3 laboratorios independientes que analizaron las muestras durante 3 días. Las muestras produjeron los resultados esperados en todos los casos.

REACTIVIDAD CRUZADA

Las muestras fecales inoculadas con los microorganismos que figuran a continuación a una concentración final de aproximadamente 10^8 o superior de microorganismos/ml no reaccionaron en la parte de antígeno ni en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Bacterias o patógenos: *Aeromonas hydrophila, Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacteroides fragilis, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Candida albicans, Clostridium butyricum, Clostridium clostridiforme, Clostridium haemolyticum, Clostridium histolyticum, Clostridium novyi, Clostridium perfringens, Clostridium septicum, Clostridium sordellii* (nontoxigénica), *Clostridium sporogenes, Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Enterococcus faecalis, Escherichia coli* EIEC, *Escherichia coli, Escherichia coli* O157:H7, *Escherichia coli* ETEC, *Klebsiella pneumoniae, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella typhimurium, Serratia liquifaciens, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus* (Cowans), *Staphylococcus epidermidis, Vibrio cholerae, Vibrio parahaemolyticus, Yersinia enterocolitica*

El único microorganismo no de *C. difficile* que reaccionó en la parte de toxina del test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®* fue *Clostridium sordellii* VPI 9048. Esta cepa produce las toxinas HT y LT que son homólogas a la toxina A y la toxina B, respectivamente.

Los siguientes virus de $10^{3.3}$ a $10^{8.25}$ unidades TCID por 0,2 ml no reaccionaron en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE®*:

Virus: tipos 1, 2, 3, 5, 40 y 41 del adenovirus, coronavirus humano, virus Coxsackie B2, B3, B4, B5, virus Echo 9, 11, 18, 22, 33, tipos 68, 69, 70 y 71 del enterovirus, rotavirus.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las siguientes sustancias (formulación de EE. UU.) no influyeron en los resultados del test cuando se encontraban presentes en las heces en las concentraciones indicadas: mucina (3,5% p/v), sangre humana (40% v/v), sulfato de bario (5% p/v), Imodium® (5% v/v), Kaopectate® (5% v/v), Pepto-Bismol® (5% v/v), ácido estérico/ácido palmítico (40% p/v), metronidazol (0,25% p/v) y vancomicina (0,25% p/v).

REACCIÓN DE AISLAMIENTOS CLÍNICOS OBTENIDOS EN AGAR DE CICLOSERINA-CEFOXITINA-FRUCTOSA (CCFA)

En total se analizaron en el test *C. DIFF QUIK CHEK COMPLET®* 103 aislamientos clínicos de *C. difficile* obtenidos mediante cultivo bacteriano anaerobio en CCFA durante 3 días a 37 °C. Para el análisis se recogieron colonias individuales que se suspendieron en *diluyente* según las recomendaciones para muestras fecales. Los 103 aislamientos dieron una reacción positiva al antígeno en el test.

Setenta de los 103 aislamientos (68%) procedían de muestras fecales que habían dado positivo para la toxina de *C. difficile* en el ensayo de cultivo tisular. De estos, 56 (80%) dieron una reacción positiva a la toxina cuando se cribaron tras el crecimiento anaerobio en CCFA durante 3 días a 37 °C.

LABORTEKNIC S.R.L.
Dr. ALEJANDRO F. CELIA
DIRECTOR TECNICO
M.N. 10933