

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B combo card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

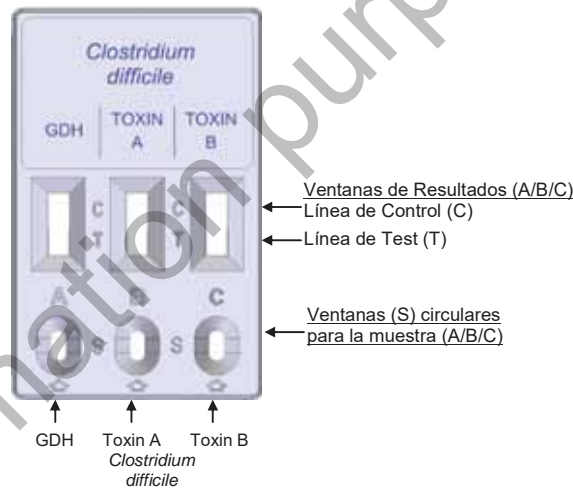
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

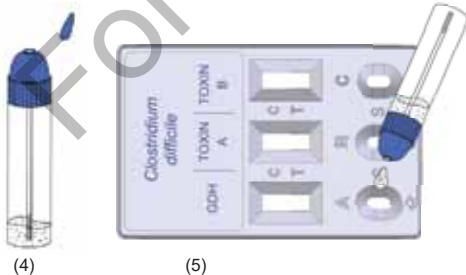
1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4), añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra A (5), con el mismo tubo, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra B (6) y con el mismo tubo, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra C (7), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



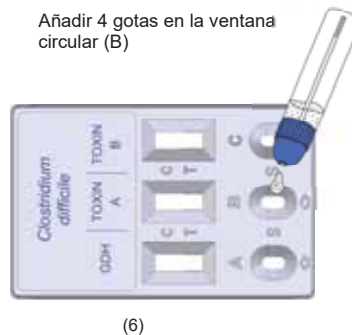
Procedimiento para la tira A de GDH

Añadir 4 gotas en la ventana circular (A)



Procedimiento para la tira B de Toxina A

Añadir 4 gotas en la ventana circular (B)



Procedimiento para la tira C de Toxina B

Añadir 4 gotas en la ventana circular (C)

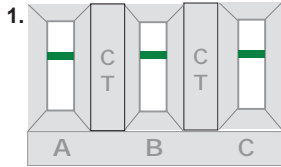


INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)

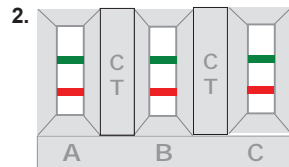


CERTEST *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B

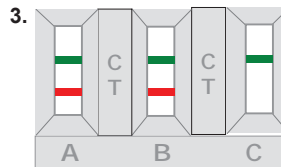
One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH, Toxin A and Toxin B in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile*, Toxina A y Toxina B en formato cassette



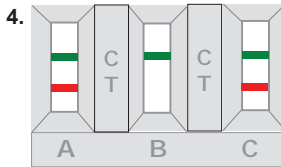
A: Verde→Negativo GDH
B: Verde→Negativo Toxina A
C: Verde→Negativo Toxina B



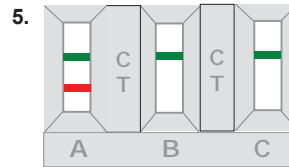
A: Verde/Rojo→Positivo GDH
B: Verde/Rojo→Positivo Toxina A
C: Verde/Rojo→Positivo Toxina B



A: Verde/Rojo→Positivo GDH
B: Verde/Rojo→Positivo Toxina A
C: Verde→Negativo Toxina B

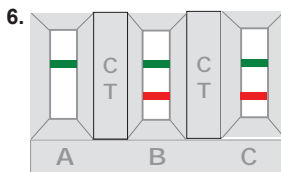


A: Verde/Rojo→ Positivo GDH
B: Verde→Negativo Toxina A
C: Verde/Rojo→Positivo Toxina B

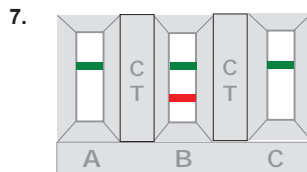


A: Verde/Rojo→Positivo GDH
B: Verde→Negativo Toxina A
C: Verde →Negativo Toxina B

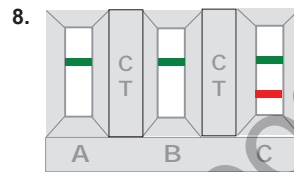
OTROS RESULTADOS



A: Verde→Negativo GDH
B: Verde/Rojo→Positivo Toxina A
C: Verde/Rojo→Positivo Toxina B



A: Verde→ Negativo GDH
B: Verde/Rojo→Positivo Toxina A
C: Verde →Negativo Toxina B



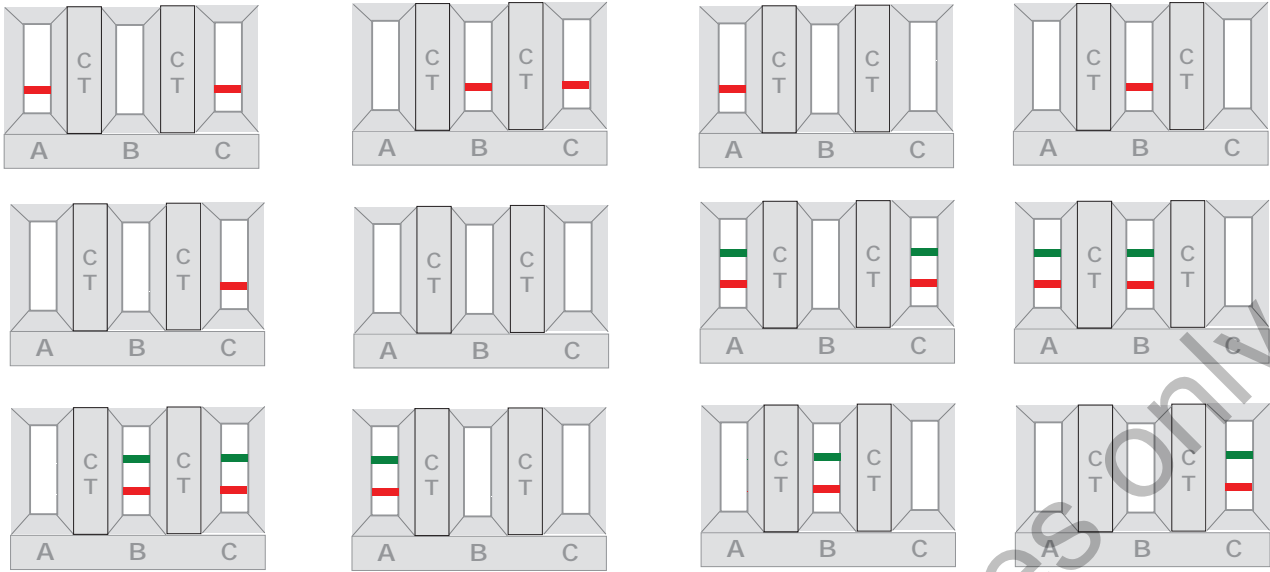
A: Verde→ Negativo GDH
B: Verde→Negativo Toxina A
C: Verde/Rojo→Positivo Toxina B

RESULTADOS INVÁLIDOS



CERTEST *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH, Toxin A and Toxin B in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile*, Toxina A y Toxina B en formato cassette



	A (GDH)	B (Toxina A)	C (Toxina C)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	- VERDE	No hay presencia de GDH, de Toxina A ni de Toxina B. No hay infección causada por <i>Clostridium difficile</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de GDH, de Toxina A y de Toxina B. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
3.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Hay presencia de GDH y de Toxina A. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
4.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de GDH y de Toxina B. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
5.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	Hay presencia de GDH. Infección por <i>Clostridium difficile</i> .
6.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Si aparece este resultado se debe repetir el test utilizando una muestra fresca. Si los resultados son otra vez positivos para Toxina A y B y negativo para GDH, la muestra se debe considerar positiva para Toxina A y B.
7.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Si aparece este resultado se debe repetir el test utilizando una muestra fresca. Si el resultado es otra vez positivo para Toxina A y negativo para GDH, la muestra se debe considerar positiva para Toxina A.
8.	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Si aparece este resultado se debe repetir el test utilizando una muestra fresca. Si el resultado es otra vez positivo para Toxina B y negativo para GDH, la muestra se debe considerar positiva para Toxina B.
9.	Cualquier otro resultado			Cualquier resultado inválido en A, en B o en C: se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

6, 7 y 8: existe la posibilidad de que un porcentaje muy bajo de muestras de negativo para GDH y positivo para toxinas.

INVÁLIDO: Cuando alguna línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de test (T) en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.



CERTEST *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH, Toxin A and Toxin B in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile*, Toxina A y Toxina B en formato cassette

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea del test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de GDH, Toxina A y Toxina B en muestras. Un resultado positivo debe ser objeto de seguimiento con técnicas de laboratorio adicionales (cultivo toxigénico) para determinar la cepa. La confirmación de una infección sólo debe ser realizada por un médico después de que todos los hallazgos clínicos y de laboratorio hayan sido evaluados y debe basarse en la correlación de los resultados con otras observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se puede considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en muestras fecales sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de *Clostridium difficile* se debería repetir la prueba con la muestra previamente sometida a enriquecimiento.

VALORES ESPERADOS

Clostridium difficile está asociado con el 95-100% de los casos de colitis pseudomembranosa, con el 60-75% de los casos de colitis asociada a uso de antibióticos y con el 35% de los casos de diarrea asociada a uso de antibióticos.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

Los límites de detección de CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B son 0,8ng/mL para GDH, 2ng/mL para Toxina A y 0,63ng/mL para Toxina B.

Sensibilidad y especificidad clínica (GDH)

Se llevó a cabo una evaluación clínica con dos tests inmunocromatográficos (CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B, CerTest vs. C. DIFF QUIK CHEK Complete®, Techlab) para detectar infección causada por *Clostridium difficile*. Las muestras provenían de pacientes con diarrea. Todas las muestras positivas fueron confirmadas con una prueba ELISA. Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B (GDH)	IC test: C. DIFF QUIK CHEK Complete®		
	+	-	Total
+	26	0	26
-	0	48	48
Total	26	48	74





CERTEST *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH, Toxin A and Toxin B in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile*, Toxina A y Toxina B en formato cassette

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B vs C. DIFF QUIK CHEK Complete®	>99%	>99%	>99%	>99%

Otra evaluación se realizó usando muestras positivas y negativas evaluadas por IC test (CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B, CerTest) y comparadas con un ensayo ELISA (WAMPOLE™ C. DIFF CHEK™-60, Techlab). Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B (GDH)	EIA test: Wampole™ C. Diff Chek™-60			
		+	-	Total
	+	39	0	39
-	2	47	49	
Total	41	47	88	

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B vs Wampole™ C. Diff Chek™-60	>95%	>99%	>99%	96%

Sensibilidad y especificidad clínica (Toxina A-B)

Se llevó a cabo una evaluación clínica con dos tests inmunocromatográficos (CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B, CerTest vs. C. DIFF QUIK CHEK Complete®, Techlab) para detectar infección causada por *Clostridium difficile*. Las muestras provenían de pacientes con diarrea. Todas las muestras positivas fueron confirmadas con una prueba ELISA. Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B (Toxina A-B)	IC test: C. DIFF QUIK CHEK Complete®			
		+	-	Total
	+	6	0	6
-	0	44	44	
Total	6	44	50	

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH+Toxin A+B vs C. DIFF QUIK CHEK Complete®	>99%	>99%	>99%	>99%

Los resultados mostraron que CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B presentan una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Clostridium difficile* antígeno GDH, Toxina A y Toxina B.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de test CerTest *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>H. pylori</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>














CERTEST *Clostridium difficile* GDH+Toxin A+B

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH, Toxin A and Toxin B in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile*, Toxina A y Toxina B en formato cassette

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. WREN, M.W.D, et al. "Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009.
2. VAISHNAVI, Ch., "Clinical spectrum & pathogenesis of *Clostridium difficile* associated diseases". Indican J. Med. Res. 131, April 2010, pp 487-499.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT	Batch code Número de lote	
 i	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	 REF	Catalogue number Número de referencia

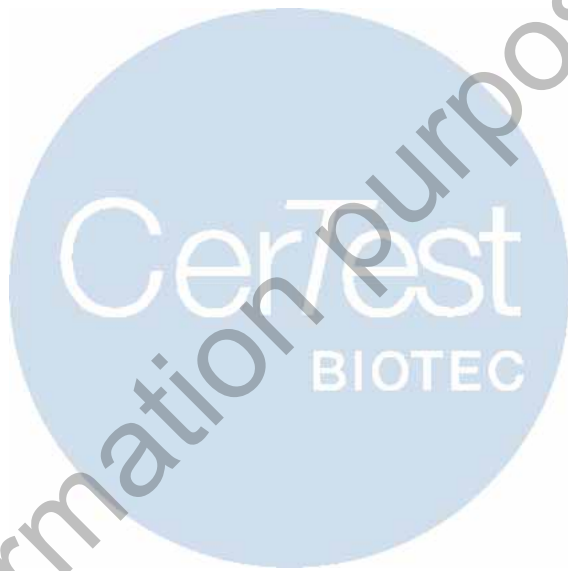
For information purposes only



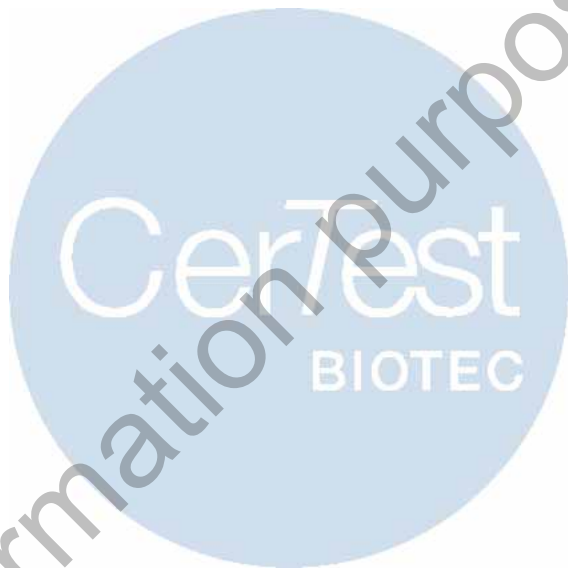
For information purposes only



For information purposes only



For information purposes only



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

