

## INDICACION DE USO

Bio-Clostridium, es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa del antígeno *Clostridium difficile* Ag-GDH+TA+TB en muestras de heces humanas.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Bio-Clostridium está lista para usarse, y se basa en la tecnología de membrana de oro coloidal, membrana de nitrocelulosa que se sensibiliza con anticuerpos dirigidos contra el antígeno de *Clostridium difficile* (GDH). La especificidad de la prueba está garantizada por un anticuerpo específico contra *Clostridium difficile* (GDH), que está conjugado con el oro coloidal. Este conjugado se seca sobre poliéster.

La muestra fecal debe diluirse en el buffer de extracción que se suministra en la muestra. Cuando la suspensión fecal entra en contacto con la tira, el conjugado solubilizado, migra con la muestra por difusión pasiva, y el conjugado con el material de muestra, entran en contacto con el anticuerpo anti-Clostridium absorbido sobre la nitrocelulosa. Si la muestra contiene *Clostridium difficile* (GDH), el complejo conjugado del antígeno, permanecerá unido al anti-Clostridium, y se desarrollará un reactivo manifestado en una línea roja. La solución continúa migrando para encontrar un segundo reactivo, que se une al conjugado de control de migración, produciendo así, una línea de control roja que confirma que la prueba esté funcionando correctamente. El resultado es visible en 10 minutos.

## RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

*Clostridium difficile* es una bacteria anaeróbica que actúa como un patógeno oportunista: crece en el intestino cuando la flora normal ha sido alterada por el tratamiento con antibióticos<sup>1,2,3</sup>. Las cepas toxígenas de *Clostridium difficile*, causan infecciones de diarrea leve a colitis pseudomembranosa, que potencialmente puede llevar a la muerte<sup>4</sup>. La enfermedad es causada por dos toxinas producidas por cepas toxígenas de *Clostridium difficile*: Toxina A (enterotoxina que daña el tejido) y Toxina B (citotoxina). Algunas cepas producen Toxinas A y B, otras producen únicamente Toxina B. El papel potencial de una tercera toxina (binaria), en la patogenicidad, aún se debate<sup>4</sup>. El uso de Glutamato Deshidrogenasa (DHG), como marcador antigénico de la proliferación de *Clostridium difficile*, ha demostrado ser muy eficaz debido a que todas las cepas producen una cantidad elevada de esta enzima<sup>5,6</sup>. *Clostridium difficile* Ag-GDH + TA+TB en heces, permite la detección específica de GDH de *Clostridium difficile* en muestras de heces. Las muestras con resultado positivo deberán investigarse más para evaluar la toxigenicidad de la bacteria.

## PRESENTACION

- 10 Cassettes de prueba
- 10 Tubos de recolección de muestras con buffer de extracción
- Ficha técnica

## MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROVISTOS

- Contenedor de recolección de muestras
- Temporizador

## ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

1. El kit puede almacenarse a temperatura ambiente o refrigerado (2-30° C).
2. La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada.
3. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
4. NO CONGELAR.
5. No utilizar después de la fecha de vencimiento.

## RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

1. Las muestras deberán ser examinadas lo más pronto posible. En caso de ser necesario, las muestras podrán ser almacenadas durante 3 días a una temperatura de entre 2-8°C, o para períodos más largos, a una temperatura de -20°C.
2. Las muestras de heces deben recogerse en un recipiente limpio, seco e impermeable que no contenga detergentes, conservantes ni medios de transporte.
3. Ponga los reactivos necesarios a temperatura ambiente antes de usar.

## INSTRUCCIONES DE USO

Permita que la prueba, muestra, buffer y/o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba.

1. Para recolectar muestras fecales:

### Para muestras sólidas:

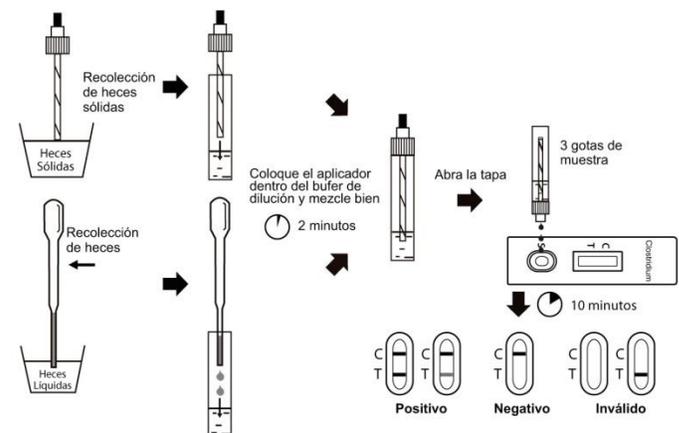
Desenrosque el tapón del tubo de recolección de muestra, e introduzca el aplicador para muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalentes a 1/4 de un guisante). No excavar en la muestra de heces.

### Para muestras líquidas:

Sostenga el gotero verticalmente, aspirar las muestras fecales, y luego transfiera 2 gotas (aproximadamente 80 µL) en el tubo de recolección de muestra que contiene el buffer de extracción.

2. Cierre el tapón del tubo de recolección de muestra y agite vigorosamente para mezclar la muestra y el buffer de extracción. Deje el tubo por 2 minutos.
3. Retire el cassette de prueba de la bolsa de aluminio y úselo en el plazo de una hora. Se obtendrán mejores resultados si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.
4. Sostenga el tubo de recolección de muestras en posición vertical y abra la tapa en el tubo de recolección de muestras. Invierta el tubo de recolección de muestras y transfiera 3 gotas completas de la muestra extraída (aproximadamente 120 µL) al pocillo de la muestra (S) del cassette de prueba, luego inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pozo de la muestra (S). Vea la ilustración a continuación.
5. Lea los resultados a los 10 minutos después de dispensar la muestra. No lea los resultados después de 20 minutos.

**Nota:** Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra extraída contenida en el vial del buffer de extracción. Recoja 80µL de sobrenadante, dispense en el pocillo de la muestra (S) de un nuevo cassette de prueba y comience de nuevo siguiendo las instrucciones mencionadas anteriormente.



---

---

## **INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

(Refiérase a la ilustración)

**POSITIVO:** \* **Aparecen dos líneas de color.** Una línea debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea en la región de la línea de prueba (T).

**\*Nota:** La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará dependiendo de la concentración de *C. difficile* presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** **Aparece una línea de color** en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T).

**INVÁLIDO:** La línea de control no aparece (C). El volumen de muestra insuficiente o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo cassette. Si el problema persiste, suspenda el uso del kit de prueba inmediatamente y contacte a su distribuidor local.

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

## **CONTROL DE CALIDAD**

Los controles internos de procedimiento están incluidos en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento interno válido que confirma un volumen de muestra suficiente y una técnica de procedimiento correcta.

Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de la prueba y para verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

## **LIMITACIONES DE LA PRUEBA**

1. Esta prueba es cualitativa, no se determina la cantidad de antígenos presentes en la muestra. La presentación clínica y otros resultados de la prueba deben tomarse en cuenta para establecer un diagnóstico.
2. Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que otros patógenos estén presentes.

## **REFERENCIAS**

1. RamadassBalamurugan, 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.
2. 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 suppl6, p. 2-18, Oct. 2006.
3. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T. Wilkins: *Clostridium difficile*: its disease and toxins. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988.
4. 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.
5. 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.
6. 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.