
CERTEST

Clostridium difficile antigen GDH

ONE STEP *Clostridium difficile* antigen
GDH CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.





CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format/
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH one step card test is a coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of *Clostridium difficile* Glutamate Dehydrogenase (GDH) in stool samples.

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH card test offers a simple and highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Clostridium difficile* infection.

INTRODUCTION

Clostridium difficile (*C. difficile*), a Gram-positive spore bearing anaerobic bacterium is the major aetiological agent of diarrhoea and colitis associated with antibiotics. *C. difficile* is the most common cause of health care-associated diarrhoea in developed countries and is a major source of nosocomial morbidity and mortality worldwide.

Disease due to *C. difficile* develops when the organism is allowed to proliferate in the colon, most commonly after antibiotic use has eliminated competing flora. *C. difficile* can release two high-molecular-weight toxins, toxin A and toxin B, which are responsible for the clinical manifestations, which range from mild, self-limited watery diarrhoea to fulminant pseudomembranous colitis, toxic megacolon and death.

Clostridium difficile Glutamate Dehydrogenase (GDH) is an enzyme produced in large quantities by all toxigenic and non-toxigenic strains, making it an excellent marker for the organism.

The toxigenic culture (TC) is used as the gold standard technique to determine *Clostridium difficile* infection. This method consists in culture and isolation of *C. difficile* from faeces, followed by toxin testing of the isolate, a labour-intensive assay to obtain a result.

TEST PRINCIPLE

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Clostridium difficile* Glutamate Dehydrogenase (GDH) in stool samples.

The strip consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against GDH and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-GDH) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming coloured conjugate complexes.

If the sample is positive, the antigen of the diluted sample reacts with the red-coloured conjugate complex (anti-GDH monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) which was previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-GDH antibodies present on the membrane (test line) capture the coloured conjugate and the red line will be visible. This band is used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no GDH antigen presence and yet, the antigen may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with the red-coloured conjugate complex. The anti-GDH antibodies present on the membrane (test line) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red line will not appear.

Whether the sample is positive or not, the mixture continues to move across the membrane to the immobilized specific antibodies placed in the control line. The anti-specific protein antibodies present on the membrane will capture control green-conjugate complex and the control line will always appear. The presence of this green line serves as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable until the expiration date marked on its sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH test. Do not use any other commercial kit component.
- The presence of yellow lines in the results window (control line zone and test line zone), before using the test, is completely normal and does not imply failure of the test functionality.



CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format/
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

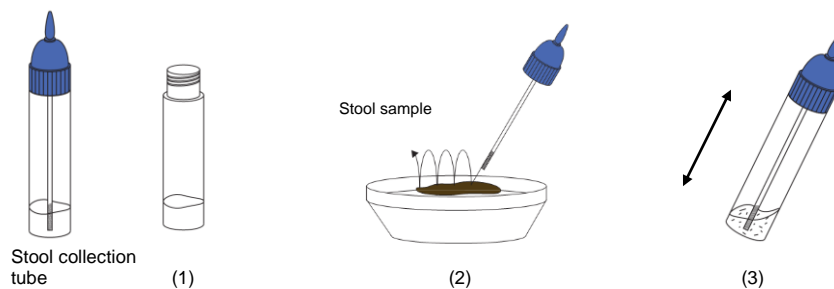
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 7 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Ensure only the amount needed is thawed because of freezing and defrosting cycles are not recommended. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the stool collection tube (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2) making sure that, at each insertion, only the stick's screw is covered with the sample to take the appropriate amount of faecal sample and add it to the stool collection tube. Any additional sample that exceeds the stick's screw could cause wrong results. For liquid samples, add approx. 125µL in the stool collection tube using a micropipette.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

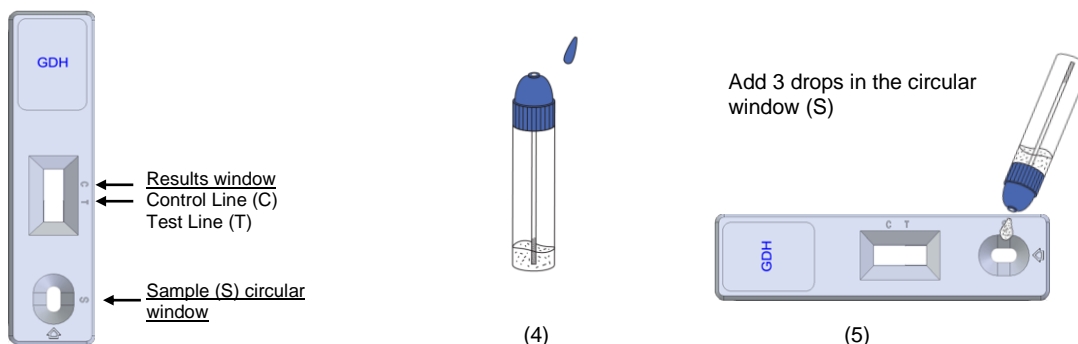
- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

Allow tests, stool samples and controls to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH card test from its sealed bag just before using it.
3. Take the stool collection tube, cut the end of the cap (4) and dispense 3 drops in the circular window marked with the letter S (5). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

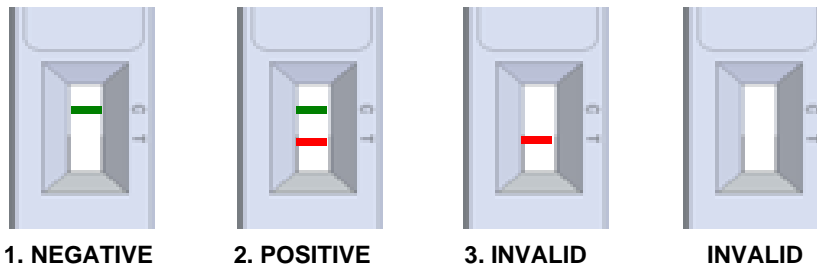
If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format/
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



	GDH	Interpretation of the results
1.	- GREEN	There is no <i>Clostridium difficile</i> presence. No infection caused by <i>Clostridium difficile</i> .
2.	+ GREEN-RED	There is <i>Clostridium difficile</i> presence. <i>Clostridium difficile</i> infection, which might mean milder or severe (colitis) diarrhoea caused by <i>C. difficile</i> or asymptomatic patient, carrier of disease.
3.	Any other result	Invalid result, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

NEGATIVE: Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigen presents in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

- The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
- An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
- The intensity of test line may vary from very strong at high antigen concentration to faint when the antigen concentration is close to the detection limit value of the test.
- CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
- Positive results determine the presence of *Clostridium difficile* in faecal samples; nevertheless, it can be due to toxigenic or non-toxigenic strains of *Clostridium difficile*. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques (toxigenic culture) to determine the strain. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
- A negative result is not meaningful because of it is possible the antigen concentration in the stool samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, a *Clostridium difficile* determination should be carried out, on a sample from an enrichment culture.
- Bloody stool samples can contain components that may cause non-specific reactions in the test. Every bloody stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.
- Mucous stool samples may cause non-specific reactions in the test- Every mucous stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.



CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format /
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

EXPECTED VALUES

Clostridium difficile is associated with 95-100% cases of pseudomembranous colitis, 60-75% cases of antibiotic-associated colitis and 35% of cases of antibiotic-associated diarrhoea cases.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit value of CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH is 0.78- 0.10 ng/mL of *Clostridium difficile* GDH recombinant protein.

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed comparing the results obtained by an immunochromatographic test (CerTest *Clostridium difficile* GDH, CerTest) and an Evaluation Criteria. The Evaluation Criteria consisted on the evaluation in parallel of two rapid test (CerTest *Clostridium difficile* GDH) vs other rapid test from the competitor; the discrepant results were confirmed by qPCR technique.

The results were as follows:

		Evaluation Criteria		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH	+	51	0	51
	-	0	75	75
	Total	51	75	126

CerTest GDH vs Evaluation Criteria		
	Mean Value	95% CI (confidence interval)
Sensitivity	100.0%	93.0 – 100.0%
Specificity	100.0%	95.2 – 100.0%
PPV	100.0%	93.0 - 100.0%
NPV	100.0%	95.2 –100.0%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenasa (GDH) using CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH; no cross reactivity against gastrointestinal pathogens, other organism, substances and/or faecal markers occasionally present in faeces:

<i>Adenovirus</i>	<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bovine Haemoglobin</i>	<i>Escherichia coli</i> O26	<i>Norovirus GI</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Bovine Lactoferrin</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Norovirus GII</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bovine Transferrin</i>	<i>Giardia</i>	<i>Pig haemoglobin</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Human Calprotectin</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Human Haemoglobin</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:3
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	<i>Human Lactoferrin</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:9
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Human Transferrin</i>		





CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format /
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

ESPAÑOL

USO PREVISTO

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de *Clostridium difficile* Glutamato Deshidrogenasa (GDH) en muestras de heces.

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por *Clostridium difficile*.

INTRODUCCIÓN

Clostridium difficile (*C. difficile*), bacteria Gram-positiva, formadora de esporas, anaeróbica, es el principal agente etiológico de la diarrea y la colitis relacionada con uso de antibióticos de origen desconocido. *C. difficile* es la principal causa de diarrea asociada al cuidado de la salud en países desarrollados y es el principal origen de morbilidad y mortalidad de enfermedad nosocomial en todo el mundo.

La enfermedad causada por *C. difficile* se origina cuando se permite que el microorganismo se multiplique en el colon, mayoritariamente a causa de la destrucción de la flora intestinal tras un tratamiento con antibióticos. Tras esta colonización, *C. difficile* puede liberar dos toxinas de alto peso molecular, toxina A y toxina B, siendo ambas las responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad, que puede ser desde una diarrea acuosa auto-limitante no grave, una colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico hasta llegar a causar la muerte.

Clostridium difficile Glutamato Deshidrogenasa (GDH) es una enzima producida en grandes cantidades por cepas toxigénicas y no toxigénicas, lo que le hace ser un marcador excelente para determinar la presencia del microorganismo.

El cultivo toxigénico (TC) es la técnica usada de referencia para determinar la infección por *Clostridium difficile*. Este método consiste en cultivo y aislamiento de *C. difficile* a partir de muestra de heces, seguido de identificación de la toxina, lo que requiere un trabajo muy laborioso para obtener un resultado.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Clostridium difficile* Glutamato Deshidrogenasa (GDH) en muestras de heces.

La membrana de nitrocelulosa ha sido fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a GDH en la línea de test (T) en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a GDH) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-GDH-microesferas rojas de látex) el cual ha sido secado previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-GDH presentes en la membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá. Esta línea se utilizará para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no presenta antígeno de GDH o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con el complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-GDH presentes en la membrana (línea de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerá la línea roja.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá. La aparición de esta línea se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).



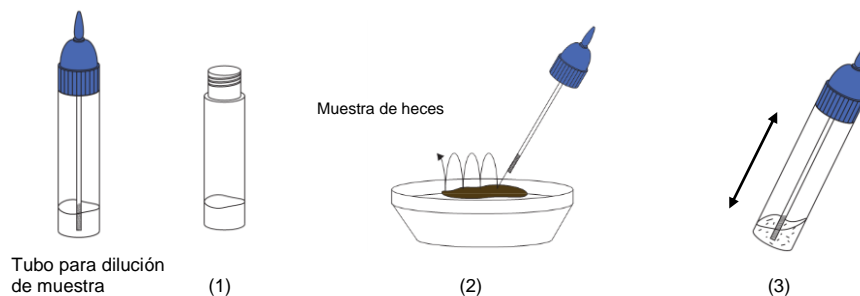
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- La presencia de líneas amarillentas en la ventana de resultados (zona línea de control y zona línea de test), antes de utilizar el test, es completamente normal y no supone fallo de funcionalidad del test.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se deben conservar en frío (2-8°C), máximo durante 7 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Ciclos de congelación y descongelación no son recomendables, por lo que, se debe descongelar únicamente la cantidad necesaria de muestra para hacer la prueba. Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), asegurándose de que, en cada inserción, la hélice del palito se cubra con la muestra para tomar la cantidad adecuada de heces y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Si se añade cantidad de muestra adicional que sobrepase la hélice del palito se podrían originar resultados erróneos. Para muestras líquidas, añadir aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH 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

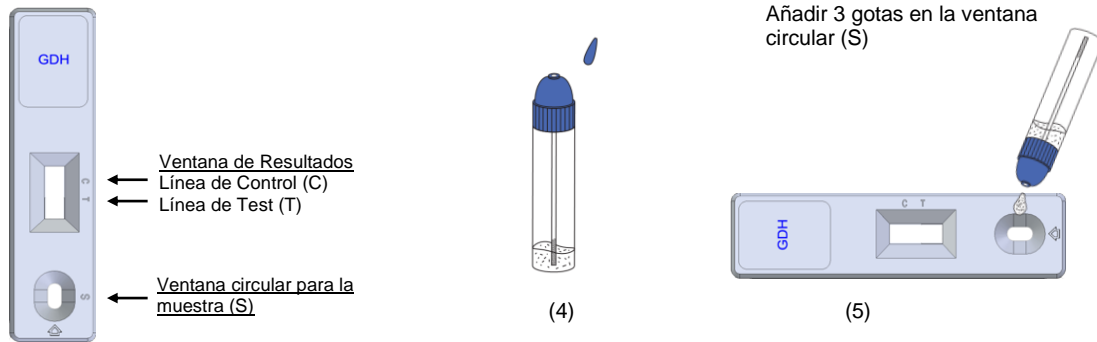
Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

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

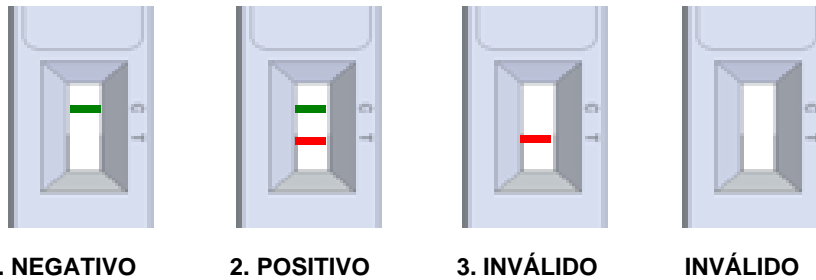
Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.

CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format /
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette



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



	GDH	Interpretación de resultados
1.	- VERDE	No hay presencia de <i>Clostridium difficile</i> . No hay infección causada por <i>Clostridium difficile</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Clostridium difficile</i> . Infección por <i>Clostridium difficile</i> , que podría llevar asociada una diarrea de tipo leve o grave (colitis) provocada por <i>Clostridium difficile</i> , o bien tratarse de un paciente asintomático portador de la enfermedad.
3.	Cualquier otro resultado	Resultado inválido, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana de resultados del test, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA en la zona marcada con la letra T (línea de test) en la ventana de resultados.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezca o no la línea 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 revisarse 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 la línea de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígeno presente en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígeno pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la línea de control (C) en la ventana de resultados es el control interno 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 antígeno a débil cuando la concentración de antígeno está cerca del valor del límite de detección del test.
- CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH 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 *Clostridium difficile* en muestras de heces; sin embargo, ésta puede ser debida a cepas toxigénicas o no-toxigénicas de *Clostridium difficile*. Un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas (cultivo toxigénico) para determinar la cepa. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se puede considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígeno 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.
- Las muestras de heces sanguinolentas contienen componentes que podrían causar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra sanguinolenta cuyo resultado es positivo debe confirmarse con otras técnicas.
- Muestra de heces mucosas podrían provocar reacciones inespecíficas en el test. Toda muestra de heces mucosas cuyo resultado sea positivo debería ser contrastado con otras técnicas diagnósticas para confirmar el resultado.

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)

El límite de detección de CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH es 0.78 – 0.10 ng/mL de proteína recombinante de *Clostridium difficile* GDH.

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces. Comparando los resultados obtenidos con un test inmunocromatográfico (CerTest *Clostridium difficile* GDH CerTest) y un Criterio de evaluación. El criterio de evaluación consistió en la evaluación en paralelo de dos test rápidos (CerTest *Clostridium difficile* GDH) vs otro test rápido de la competencia: los resultados discrepantes fueron confirmados con la técnica de qPCR. Los resultados se muestran a continuación:

IC test: CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH	Criterio evaluación			Total
		+	-	
	+	51	0	
-	0	75	75	
Total	51	75	126	

CerTest <i>Clostridium difficile</i> GDH vs Criterio evaluación		
	Valor medio	95% intervalo de confianza
Sensibilidad	100.0%	93.0 – 100.0%
Especificidad	100.0%	95.2 – 100.0%
VPP	100.0%	93.0 - 100.0%
VPN	100.0%	95.2 – 100.0%



CERTEST *Clostridium difficile* antigen GDH

One Step test to detect *Clostridium difficile* antigen GDH in card format/
Prueba de un solo paso para detección del antígeno GDH de *Clostridium difficile* en formato cassette

Los resultados mostraron que CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Clostridium difficile* glutamato deshidrogenasa (GDH).

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas del test CerTest *Clostridium difficile* antigen GDH; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales, otros organismos, sustancias y/o marcadores fecales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Adenovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O26	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Escherichia coli</i> O157	<i>Norovirus GI</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Calprotectina humana</i>	<i>Giardia</i>	<i>Norovirus GII</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hemoglobina bovina</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	<i>Hemoglobina de cerdo</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>	<i>Transferrina bovina</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	<i>Hemoglobina humana</i>	<i>Salmonella typhi</i>	<i>Transferrina humana</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Lactoferrina bovina</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:3
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Lactoferrina humana</i>	<i>Shigella boydii</i>	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:9
<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Legionella pneumophila</i>		

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 In vitro diagnostic device Producto para diagnóstico in vitro	Keep dry Almacenar en lugar seco	Use by Fecha de caducidad	Manufacturer Fabricante	LOT Batch code Número de lote
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
Do not re-use No reutilizar	CE marking/ Marcado CE			





CerTest
BIOTEC S.L.

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



F-368 rev00