

ENGLISH - ESPAÑOL

Ref: RTB25GD
RTB25GDC
RTB25GDCN



biotical

C. difficile GDH Card

Rapid Test to detect
Clostridium difficile
GDH in card format

Prueba rápida para la
detección de Clostridium
difficile GDH en formato
de tarjeta.

biotical health
ready to test



IU RTB25GD-RTB25GDC-RTB25GDCN Rev. 04 / 2024-03

ISO 13485 CERTIFIED
MEDICAL DEVICE
QUALITY MANAGEMENT SYSTEM





biotical C. difficile GDH Card

ENGLISH

WHAT IS BIOTICAL C. DIFFICILE GDH CARD USED FOR?

biotical C. difficile GDH Card is a rapid immunochromatography test for the qualitative detection of the enzyme glutamate dehydrogenase (GDH) *Clostridium difficile* in stool samples. Thanks to its easy handling and high sensitivity, the healthcare professional will be able to make a simple diagnosis and detect the possible presence of *Clostridium difficile* in infected people.

WHAT IS CLOSTRIDIUM DIFFICILE (C. DIFFICILE)?

Clostridium difficile (*C. difficile*) is an anaerobic Gram-positive bacterium. It is the leading pathogen linked to antibiotic-associated diarrhoea and/or pseudomembranous colitis in hospitalized patients, the leading cause of healthcare-associated diarrhoea in developed countries, and the leading source of nosocomial disease morbidity and mortality worldwide.

Most of the existing bacterial flora in the colon of a healthy adult is generally resistant to colonization by *C. difficile*. If the bacterial flora is altered (due to the excessive use of antibiotics, for example), resistance to colonization by these bacteria is lost and the microorganism is allowed to multiply in the colon. In addition, its ability to form spores allows this bacterium to persist in patients for long periods and facilitates its faecal-oral transmission.

This colonization causes the release of:

- **Toxins A and B:** toxigenic strains responsible for the clinical manifestations of *C. difficile* disease, which can range from non-serious watery diarrhoea, pseudomembranous colitis, toxic megacolon, to death (see biotical C. difficile Toxins A+B Card).
- **Clostridium difficile glutamate dehydrogenase (GDH):** enzyme produced in large quantities by toxigenic (toxins A and B) and non-toxigenic strains, which makes it an excellent marker to determine the presence of the microorganism.
- **Biotical Clostridium difficile GDH Card** will detect the presence of this enzyme.

Toxigenic culture (TC) is the reference technique used to determine *Clostridium difficile* infection. This method consists of culturing and isolating *C. difficile* from a stool sample, followed by identification of the toxin, which requires very laborious work to obtain a result. However, the biotical C. difficile GDH card is an easy-to-use qualitative immunochromatographic test with almost immediate results for the detection of *Clostridium difficile* Glutamate Dehydrogenase (GDH) in stool samples.

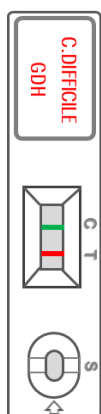
REFERENCE TABLE

In the following table you can find all the product references related to the test purchased.

REFERENCE	NAME	CONTENT
RTB25GD	biotal C. difficile GDH Card	25 Test without positive or negative control.
RTB25GDC	biotal C. difficile GDH Card (+PC)	25 Test with positive control.
RTB25GDCN	biotal C. difficile GDH Card (+PC +NC)	25 Test with positive and negative control.

HOW DOES BIOTAL C. DIFFICILE GDH CARD WORK?

The cassette (card) has inside a test strip with a nitrocellulose membrane that has been previously fixed:



- In the **GREEN** line (C): with rabbit polyclonal antibodies against a specific protein.
- In the **RED** line (T): with mouse monoclonal antibodies against antigens of GDH.
- In the **sample area (S)**: a reagent preparation for test line T (mouse monoclonal antibodies against GDH) conjugated with red polystyrene latex and another preparation for control line C (specific binding protein) conjugated with green polystyrene latex have been dispensed, forming two conjugated coloured complexes.

TEST LINE (T):

If the sample is positive: Antigens from the patient sample will react with the red coloured conjugate complex (anti-GDH monoclonal antibodies-red latex microspheres) and progress through the membrane by capillarity. The anti-GDH antibodies present on the membrane (test line) will capture the coloured complex of the test, giving rise to the red line.

If the sample is negative: if the sample is negative and therefore does not contain antigen (or the antigen is present at a concentration below the limit of detection), there is no reaction with the red coloured complex. Anti-GDH antibodies present on the membrane (test line) will not capture the red coloured antigen-complex (not formed) and the red line will not appear.

CONTROL LINE (C):

Regardless of whether the sample is positive or negative, to verify that the test has been carried out correctly (sufficient sample volume, appropriate flow rate, internal control of the reagents, etc.) the mixture will continue to move through the membrane towards the immobilized antibodies against the specific protein located on the line of control (C). These specific anti-protein antibodies present on the membrane will capture the control conjugate complex and the green control line will always appear.

STORAGE CONDITIONS

The product must be stored between 2 and 30°C in its original sealed container, to achieve optimum performance until the expiration date printed on the container. It should not be opened until the time of use. do not freeze.

GENERAL PRECAUTIONS

- For professional in vitro use only.
- Do not use after the expiration date.
- Samples must be considered potentially dangerous and must be handled in the same way as an infectious agent. A new test should be used for each sample to avoid contamination errors.
- Tests and samples must be disposed of in an appropriate medical waste container after use.
- The reagents contain preservatives. Avoid any contact with the skin or mucous membranes. Consult the safety data sheet, available on request.
- The components included in the kit are approved for use in the test as supplied. Do not use any other commercial kit component if compatibility is not specified.
- Follow good laboratory practices, wear protective clothing, wear disposal gloves, goggles, and mask. Do not eat, drink or smoke in the work area.
- Pale yellow or orange bands may appear in the result window of the test strips, at the positions where the coloured test and control bands should appear, before the test is performed. These bands are completely normal and correspond to the capture antibodies of the test. The existence of these bands does not alter the state of conservation and functionality of the kit.

MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- Cassette or card (Card) of the test.
- Instructions for use.
- Tubes for sample dilution with diluent.
- Positive control (only in the reference RTB25GDC and RTB25GDCN).
- Negative control (only in the reference RTB25GDCN).

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Container for sample collection.
- Disposable gloves.
- Stopwatch.

Kit contains materials for analysis of up to 25 samples or controls.

SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Samples should be collected in a clean container. Samples must be kept cold (2-8°C), for a maximum of 7 days, until they are used. To preserve the samples for a long time, maximum 1 year, they must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample must be completely thawed and brought to room temperature before it can be used in the test. Freeze and thaw cycles are not recommended, so only the amount of sample needed to perform the test should be thawed. Homogenize the sample vigorously before its preparation.

Sample preparation (see drawing):

- Open the sample dilution tube. ① and with the help of the stick take a sufficient amount of sample of the collected feces. To do this, the stick will be inserted once in 4 different areas of the sample ②, making sure that, at each insertion, the helix of the stick is covered with the sample to collect the appropriate amount of feces and then the sample will be introduced into the tube for sample dilution. Adding an additional amount of sample that exceeds the helix of the stick could cause erroneous results. For liquid samples, add approx. 125µL in the tube for sample dilution using a micropipette.
- Close the tube containing the sample and diluent. Shake it to facilitate the dispersion of the sample ③.



1 Sample dilution tube



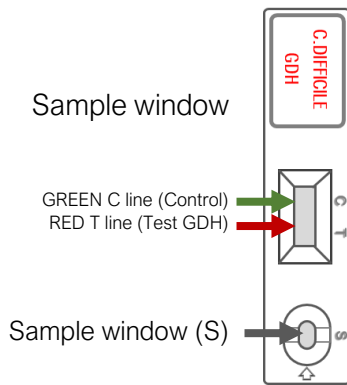
2 Stool sample



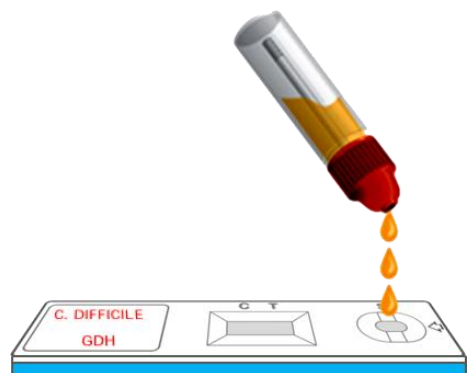
3 shake vigorously

TEST PROCEDURE

Previously, the tests, stool samples and controls must be conditioned at room temperature (15-30 °C). do not open the containers until the moment of the test.



4 Cut the end of the cap.



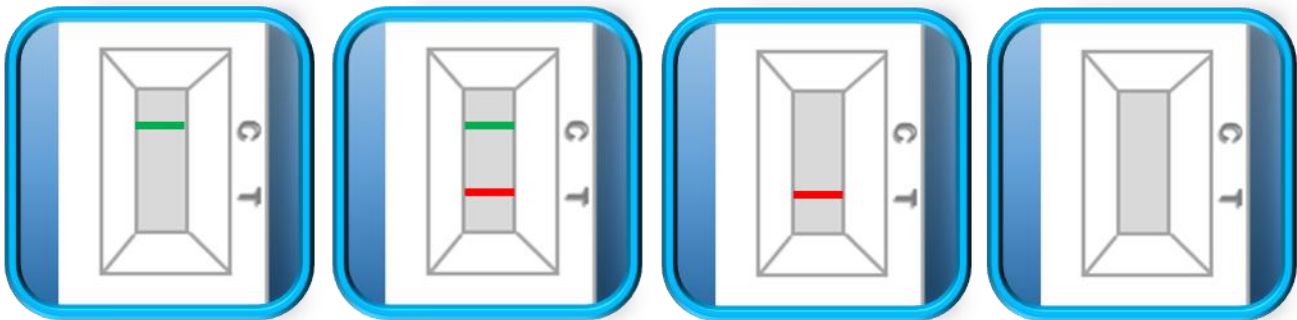
5 Add 3 drops in the circular window (S).

- Proceed to **shake the stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
- Remove the test card from its sealed bag just before using it.
- Take the stool collection tube, **cut the end of the cap** 4.
- **Dispense 3 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S 5. Avoid adding solid particles with the liquid.
- **Read the results at 10 minutes.** The results will not be valid after 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.

INTERPRETATION OF RESULTS

(Please refer to the illustration below)



NEGATIVE

POSITIVE

INVALID RESULT

INVALID RESULT

	biotal Test	Interpretation of the results
1	C = GREEN LINE T = NO LINE	NEGATIVE Only the GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line). No presence of <i>C. difficile GDH</i> is detected in the sample.
2	C = GREEN LINE T = RED 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. <i>C. difficile GDH</i> presence is detected in the sample.
3-4	Any other result	INVALID Total absence of the control line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED) causes an invalid result. 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 result 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 windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens 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 as an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

The following sections (**POSITIVE CONTROL** & **NEGATIVE CONTROL**) only apply if the corresponding positive and negative controls are available (sold separately or with kits references **RTB25GDC** & **RTB25GDCN**).

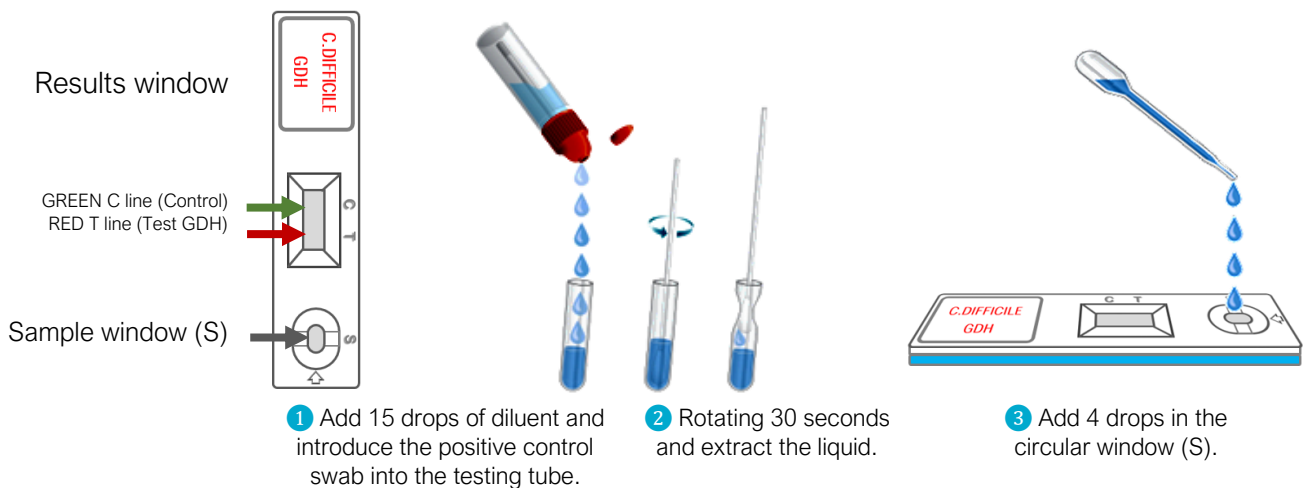
POSITIVE CONTROLS: INTENDED USE & COMPOSITION

biotal C. difficile GDH Positive control is external quality control for biotal C. difficile GDH Card. This control swab should be used to assess that the reagents and performance of the test are adequate..

biotal C. difficile GDH Positive control is made from swab-dried *C. difficile* Glutamate Dehydrogenase (GDH) inactivated antigens, contains a preservative. Not infective.



POSITIVE CONTROLS: TESTING PROCEDURE

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



- **Add 15 drops of diluent** and immediately introduce the positive control swab into the testing tube **1**.
- Mix the solution by **rotating the positive control swab** forcefully against the side of the testing tube at least **30 seconds** **2**. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotal device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. **Dispense 4 drops** from the testing tube in the circular window marked with the letter S **3**.
- **Read the result at 10 minutes**. do not read the test result later than 10 minutes.

POSITIVE CONTROL – INTERPRETATION OF RESULTS

	biotal Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = RED LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL POSITIVE</p> <p>A GREEN line (C) and a RED line (T) appear across the results window during the test performance due to presence of the antigens in the positive control swab.</p>
2		<p>INVALID RESULT</p> <p>Total absence of the control line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only appears the control line.</p> <p>Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new positive control swab.</p>


NEGATIVE CONTROL: INTENDED USE & COMPOSITION

The biotal Negative Control is an external quality control for all immunochromatographic tests manufactured by biotal. Use this control swab to check that the extraction reagents and the test are working properly.

biotal Negative Control is manufactured with negative control buffer dried in swab containing a preservative.

NEGATIVE CONTROL: TESTING PROCEDURE



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



- 1 Add 15 drops of diluent and introduce the negative control swab into the testing tube.
- 2 Rotating 30 seconds and extract the liquid.
- 3 Add 4 drops in the circular window (S).

- Add 15 drops of diluent and immediately introduce the negative control swab into the testing tube ①.
- Mix the solution by rotating the negative control swab forcefully against the side of the testing tube at least 30 seconds ②. Extract as much liquid as possible from the swab, squeezing the sides of the testing tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
- Remove the biotal device from its sealed bag just before using it.
- Use a separate pipette and test for each control. Dispense 4 drops from the testing tube in the circular window marked with the letter S ③.
- Read the result at 10 minutes. do not read the test result later than 10 minutes.

NEGATIVE CONTROL: INTERPRETATION OF RESULTS

	biotal Test	Interpretation of the results
1	 <p>C = GREEN LINE T = NO LINE</p>	<p>RESULT: CONTROL NEGATIVE</p> <p>Only the control line (C) appears across the results window during the test performance.</p>
2		<p>RESULT: INVALID FOR NEGATIVE CONTROL</p> <p>Total absence of the control line, and/or the card shows the test line. Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the main reasons for control line failure.</p> <p>Review the procedure and repeat the control with a new test and a new negative control swab.</p>

LIMITATIONS OF THIS TEST

- The test must be performed a maximum of 2 hours after opening the bag that contains it.
- Indistinct brownish lines may appear. They are caused by an insufficient dilution of the sample and have no diagnostic value. If this occurs, the test must be repeated in a new cassette, increasing the dilution factor of the sample.
- The test has been validated with human faecal samples. Its use with other kinds of samples has not been tested, so its use is not recommended. Proper sampling is essential to ensure the validity of the test results.
- A positive test result confirms the presence of *Clostridium difficile* in the sample, without determining whether they are toxigenic or non-toxigenic strains. To confirm *Clostridium difficile* infection, it is necessary for a specialist to evaluate the results together with the other clinical evidence of the patient. In order to issue a valid clinical diagnosis that may include the toxicity of the strain found in the sample, it is necessary to confirm the test results using other diagnostic techniques (toxigenic culture).
- If a negative result is obtained in the test and the symptoms persist, it is advisable to repeat the test after a few days. A negative result does not indicate the absence of *Clostridium difficile* infection. The appearance of false negatives is possible due to not reaching the detection limit of the test.
- Bloody stool samples contain components that could cause non-specific reactions in the test. All bloody samples whose result is positive must be confirmed with other techniques.
- Mucous stool sample could cause non-specific reactions in the test. Any mucous stool sample with a positive result should be contrasted with other diagnostic techniques to confirm the result.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Analytical sensitivity (detection limit):

The detection limit of biotical C. difficile GDH Card is 0.78 – 0.10 ng/mL of recombinant *Clostridium difficile* GDH protein.

Clinical sensitivity and specificity:

An evaluation was carried out, with stool samples. Comparing the results obtained with an immunochromatographic test (biotical C. difficile GDH Card, biotical) and an evaluation criterion. The evaluation criteria consisted of the parallel evaluation of two rapid tests (biotical C. difficile GDH Card) vs. another competitive rapid test: discrepant results were confirmed with the qPCR technique.

The results are shown below:

		qPCR		
		+	-	Total
IC test: biotical C. difficile GDH Card	+	51	0	51
	-	0	75	75
	Total	51	75	126

<i>Biotical Clostridium difficile</i> GDH Card vs evaluation criteria	Middle value	95% Confidence Interval
SENSITIVITY	100%	93,0 - 100%
SPECIFICITY	100%	95,2 - 100%
PPV	100%	93,0 - 100%
NPV	100%	95,2 - 100%
ACCURACY	100%	97,1 - 100%

The results showed that biotical C. difficile GDH Card has a high sensitivity and specificity to detect *Clostridium difficile* glutamate dehydrogenase (GDH).

CROSS REACTIVITY

An evaluation was carried out to determine possible cross-reactions of biotal Clostridium difficile GDH; no cross-reaction with organisms causing other gastrointestinal infections was detected.

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

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS & REAGENTS



In vitro diagnostic device



Consult instructions for use



Keep dry



Use by



Temperature limitation



Manufacturer



Contains sufficient for <n> test

DIL

Sample diluent

LOT

Batch code

REF

Catalogue number

biotical C. difficile GDH Card

ESPAÑOL

¿PARA QUÉ SE USA BIOTICAL C. DIFFICILE GDH CARD?

biotical C. difficile GDH Card es una prueba rápida de inmunocromatografía para la detección cualitativa de la enzima glutamato deshidrogenasa (GDH) de *Clostridium difficile* en muestras de heces. Gracias a su fácil manejo y su alta sensibilidad, el profesional sanitario podrá realizar un diagnóstico sencillo y detectar la posible presencia de *Clostridium difficile* en personas infectadas.

¿QUÉ ES CLOSTRIDIUM DIFFICILE (C. DIFFICILE)?

Clostridium difficile (*C. difficile*) es una bacteria anaeróbica Gram-positiva. Es el principal patógeno vinculado a la diarrea asociada a antibióticos y/o colitis pseudomembranosa en pacientes hospitalizados, la principal causa de diarrea asociada al cuidado de la salud en países desarrollados, y el principal origen de morbilidad y mortalidad de enfermedad nosocomial en todo el mundo.

La mayor parte de la flora bacteriana existente en el colon de un adulto sano es generalmente resistente a la colonización por *C. difficile*. Si la flora bacteriana se altera (por el uso excesivo de antibióticos, por ejemplo), la resistencia a la colonización por esta bacteria se pierde y se permite que el microorganismo se multiplique en el colon. Además, su capacidad de formar esporas permite que esta bacteria persista en los pacientes durante largos periodos y facilita su transmisión fecal-oral.

Esta colonización provoca la liberación de:

- **Toxinas A y B:** cepas toxigénicas responsables de las manifestaciones clínicas de la enfermedad del *C. difficile*, que pueden ir desde una diarrea acuosa no grave, una colitis pseudomembranosa, megacolon tóxico, hasta la muerte (ver biotical C. difficile Toxins A+B Card).
- **Clostridium difficile Glutamato deshidrogenasa (GDH):** enzima producida en grandes cantidades por cepas toxigénicas (toxinas A y B) y no toxigénicas, lo que le hace ser un marcador excelente para determinar la presencia del microorganismo.
- **Biotical C. difficile GDH Card** detectará la presencia de esta enzima.

El cultivo toxigénico (TC) es la técnica usada de referencia para determinar la infección por *Clostridium difficile*. Este método consiste en el 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. Sin embargo, biotical C. difficile GDH Card, es una prueba cualitativa inmunocromatográfica de fácil utilización y con resultados casi inmediatos, para la detección de *Clostridium difficile* Glutamato Deshidrogenasa (GDH) en muestras de heces.

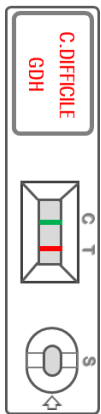
TABLA DE REFERENCIAS

En la siguiente tabla puede encontrar todas las referencias de productos relacionados con el test adquirido.

REFERENCIA	NOMBRE	CONTENIDO
RTB25GD	biotical C. difficile GDH Card	25 Test sin control positivo ni negativo.
RTB25GDC	biotical C. difficile GDH Card (+PC)	25 Test con control positivo.
RTB25GDCN	biotical C. difficile GDH Card (+PC +NC)	25 Test con control positivo y negativo.

¿CÓMO FUNCIONA BIOTICAL C. DIFFICILE GDH CARD?

El casete (card) posee en su interior una tira reactiva con una membrana de nitrocelulosa que ha sido fijada previamente:



- **En la línea VERDE (C):** con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica.
- **En la línea ROJA (T):** con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de GDH.
- **En la zona de muestra (S):** se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test T (anticuerpos monoclonales de ratón frente a GDH) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control C (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

LÍNEA DE TEST (T):

Si la muestra es positiva: los antígenos de la muestra del paciente reaccionarán con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-GDH-microesferas rojas de látex) y avanzan por capilaridad a través de la membrana. Los anticuerpos anti-GDH presentes en la membrana (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test dando lugar a la línea roja.

Si la muestra es negativa: si la muestra es negativa y por lo tanto no contiene antígenos (o el antígeno está presente en una concentración inferior al límite de detección), 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.

LÍNEA DE CONTROL (C):

Independientemente de que la muestra sea positiva o negativa, para verificar que se ha realizado correctamente el test (volumen de muestra suficiente, flujo apropiado, control interno de los reactivos, etc.) la mezcla continuará moviéndose a través de la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en la línea de control (C). Estos anticuerpos antiproteína específica presentes en la membrana capturarán el complejo conjugado de control y la línea de control verde siempre aparecerá.

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 GENERALES

- 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 test y las muestras deben desecharse en un contenedor de residuos sanitarios adecuado después de su uso.
- Los reactivos contienen conservantes. Evite cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consulte la ficha de datos de seguridad, disponible bajo petición.
- Los componentes incluidos en el kit están aprobados para su uso en la prueba que se suministran. No utilice ningún otro componente de kit comercial si no se especifica la compatibilidad.
- Siga las buenas prácticas de laboratorio, use ropa protectora, use guantes de eliminación, gafas y máscara. No coma, bebe ni fume en el área de trabajo.
- Es posible que aparezcan bandas color amarillo o naranja pálido en la ventana de resultados de las tiras de test, en las posiciones donde deberán aparecer las bandas coloreadas de test y control, antes de que se realice la prueba. Estas bandas son completamente normales y corresponde a los anticuerpos de captura de la prueba. La existencia de estas bandas no altera el estado de conservación y funcionalidad del kit.

MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- Casete o tarjeta (Card) del test.
- Instrucciones de uso.
- Tubos para dilución de muestra con diluyente.
- Control positivo (solo en la referencia RTB25GDC y RTB25GDCN).
- Control negativo (solo en la referencia RTB25GDCN).

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para recogida de muestras.
- Guantes desechables.
- Cronómetro.

El kit contiene materiales para el análisis de hasta 25 muestras o controles.

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):

- 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, añada aprox. 125µL en el tubo para dilución de muestra utilizando una micropipeta.
- Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra **3**.



1 Tubo para dilución de muestra



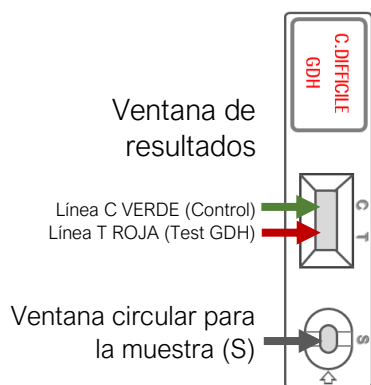
2 Muestra de heces



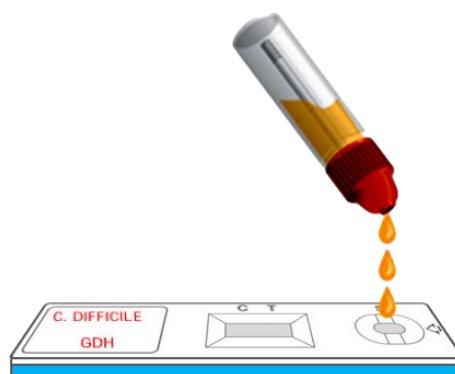
3 Agite vigorosamente

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

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.



4 Cortar el extremo de la tapa.



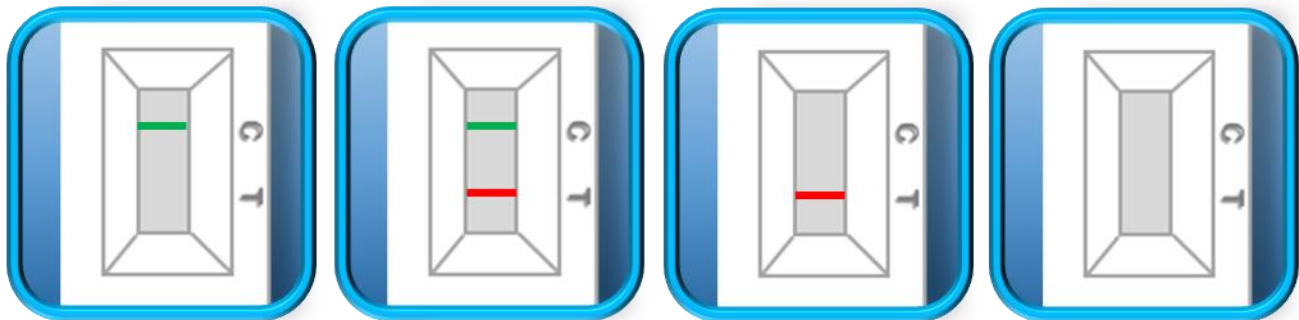
5 Añadir 3 gotas en la ventana circular (S).

- Proceder a **agitar el tubo de recogida de heces** para asegurar una buena dispersión de la muestra.
- Retire la tarjeta de test (card) de su bolsa sellada justo antes de usarla.
- Tomar el tubo para dilución de muestra, **cortar la punta del tapón** **4**.
- **Añadir 3 gotas** del tubo de ensayo en la ventana circular marcada con la letra S **5**. Evite añadir partículas sólidas con el líquido.
- **Leer los resultados a los 10 minutos**. Los resultados no serán válidos después de 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.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



NEGATIVO

POSITIVO

NO VÁLIDO

NO VÁLIDO

	biotical Test	Interpretación de los resultados.
1	C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA	NEGATIVO PARA CLOSTRIDIUM DIFFICILE GDH Solo aparece la línea VERDE en la ventana de resultados en el sitio marcado con la letra C (línea de control). No se detecta presencia de <i>Clostridium difficile GDH</i> en la muestra.
2	C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA	POSITIVO PARA CLOSTRIDIUM DIFFICILE GDH Además de la línea de control VERDE , también aparece una línea ROJA en el sitio marcado con la letra T (línea de test) en la ventana Resultados. Se detecta presencia de <i>Clostridium difficile GDH</i> en la muestra.
3-4	Cualquier otro resultado	RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control (VERDE) sin importar si aparece o no la línea de test (ROJA) causa un resultado no válido. Un volumen insuficiente de la muestra, técnicas de procedimiento incorrectas o el deterioro de los reactivos son las razones principales por las que aparece este resultado. Revise el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo test. Si el resultado persiste, póngase en contacto con su distribuidor local.

NOTAS SOBRE LA INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

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 test incluye un control interno de procedimiento. 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.

Las siguientes secciones (**CONTROL POSITIVO & CONTROL NEGATIVO**) solo se aplica si los controles positivo o negativo correspondiente están disponibles (vendidos por separado o con kits con referencias **RTB25GDC & RTB25GDCN**).

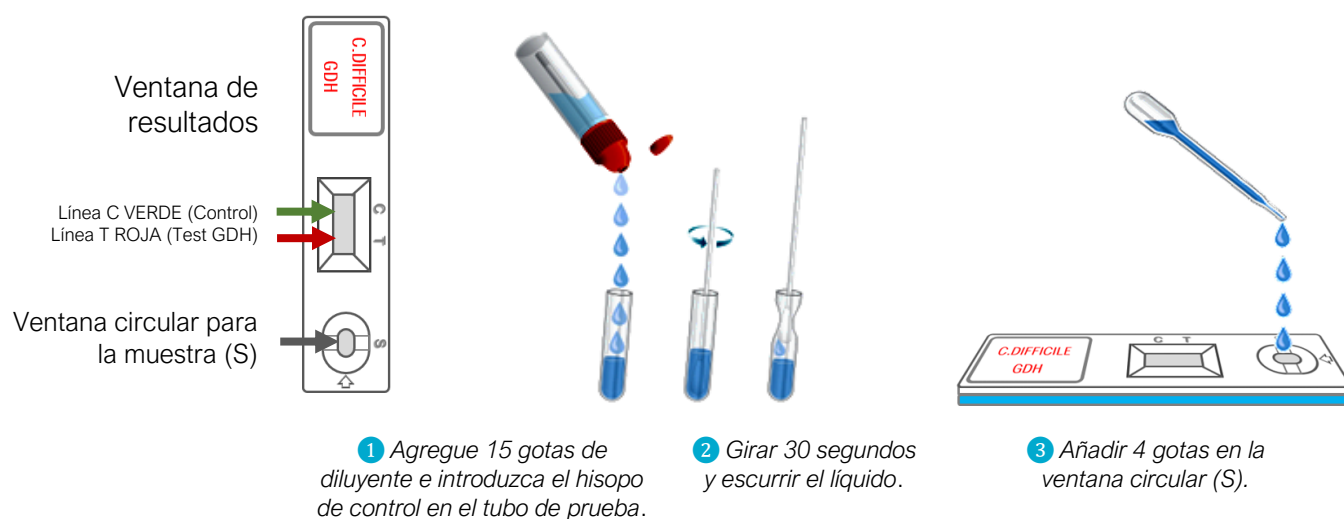
CONTROL POSITIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical C. difficile GDH Positive control es el control de calidad externo para biotical C. difficile GDH Card. Este hisopo control se debe usar para evaluar que los reactivos y el funcionamiento del test son adecuados.

biotical C. difficile GDH Positive control está fabricado a partir de antígenos inactivados de *Clostridium difficile* *Glutamato Deshidrogenasa* (GDH) secados en hisopo, contiene un conservante. No infeccioso.

CONTROL POSITIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba 1.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos** 2. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S 3.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL POSITIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	<p>C = LÍNEA VERDE T = LÍNEA ROJA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL POSITIVO</p> <p>Una línea VERDE (C) y una línea ROJA (T) aparecen en la ventana de resultados debido a la presencia de los antígenos en el hisopo de control positivo.</p>

2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO</p> <p>Ausencia total de la línea de control (VERDE), importar si aparece o no la línea de test (ROJA), o bien aparece únicamente la línea de control.</p> <p>Procedimientos incorrectos o deterioro de los reactivos son las razones principales por las que puede no aparecer la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva tarjeta de test y un nuevo hisopo de control positivo.</p>
---	--	---

CONTROL NEGATIVO: USO PREVISTO & COMPOSICIÓN

biotical Negative Control es un control de calidad externo para todas las pruebas inmunocromatográficas fabricadas por biotical. Use este hisopo de control para verificar que los reactivos de extracción y la prueba funcionen correctamente.

biotical Negative Control está fabricado con tampón de control negativo secado en hisopo, contiene un conservante.



CONTROL NEGATIVO: PROCEDIMIENTO DE PRUEBA

Deje que los test y los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30°C) antes de realizar la prueba. No abra el envase del test hasta la realización del ensayo.



- **Añadir 15 gotas de diluyente.** Introduzca el hisopo de control en el tubo de prueba **1**.
- Mezcle la solución **girando el hisopo de control** con fuerza contra el lado del tubo de prueba al menos **30 segundos 2**. Escurra tanto líquido como sea posible del hisopo, presionando los lados del tubo de prueba a medida que se retira el hisopo. Descartar el hisopo.
- Retire la tarjeta de test biotical correspondiente de su bolsa sellada justo antes de usarlo.
- Use una pipeta y prueba separada para cada control. **Dispense 4 gotas** desde el tubo de prueba en la ventana circular marcada con la letra S **3**.
- **Lea el resultado a 10 minutos.** Los resultados no serán válidos transcurridos 10 minutos.

CONTROL NEGATIVO: INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

	biotical Test	Interpretación de los resultados
1	 <p>C = LÍNEA VERDE T = NO HAY LÍNEA</p>	<p>RESULTADO: CONTROL NEGATIVO Solo aparece la línea de control (C) en la ventana de resultados durante la prueba.</p>
2		<p>RESULTADO NO VÁLIDO La ausencia total de la línea de control, y/o aparición de la línea de test. Técnicas de procedimiento incorrectas o deterioro de los reactivos son las razones principales de que no aparezca la línea de control. Revise el procedimiento y repita el control con una nueva prueba y un nuevo hisopo de control negativo.</p>

LIMITACIONES DEL PRESENTE TEST

- El test debe ser realizado como máximo hasta 2 horas después de haber abierto la bolsa que lo contiene.
- Pueden aparecer líneas poco definidas color pardo. Son ocasionadas por una dilución insuficiente de la muestra y no poseen valor diagnóstico alguno. En caso de producirse, se deberá repetir el test en un nuevo casete, aumentando el factor de dilución de la muestra.
- El test ha sido validado con muestras fecales humanas. Su uso con otra clase de muestras no ha sido probado por lo que no se recomienda su utilización. Una adecuada toma de muestras es primordial para asegurar la validez de los resultados del test.
- Un resultado positivo del test confirma la presencia de *Clostridium difficile* en la muestra, sin determinar si se trata de cepas toxigénicas o no toxigénicas. Para confirmar la infección por *Clostridium difficile* es necesario que un especialista evalúe los resultados junto con las demás evidencias clínicas del paciente. Para poder emitir un diagnóstico clínico válido que pueda incluir la toxicidad de la cepa hallada en la muestra es necesario confirmar los resultados del test mediante otras técnicas diagnósticas (cultivo toxigénico).
- En caso de obtenerse un resultado negativo en el test y persistir los síntomas, es recomendable repetir la prueba transcurrido unos días. Un resultado negativo no indica ausencia de infección por *Clostridium difficile*. Es posible la aparición de falsos negativos por no alcanzar el límite de detección del test.
- 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.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Sensibilidad analítica (límite de detección):

El límite de detección de biotical C. difficile GDH Card 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 (biotical C. difficile GDH Card, biotical) y un Criterio de evaluación. El criterio de evaluación consistió en la evaluación en paralelo de dos test rápidos (biotical C. difficile GDH Card) vs otro test rápido de la competencia: los resultados discrepantes fueron confirmados con la técnica de qPCR.

Los resultados se muestran a continuación:

		qPCR		
		+	-	Total
IC test: biotical C. difficile GDH Card	+	51	0	51
	-	0	75	75
	Total	51	75	126

<i>Biotical C. difficile</i> GDH Card vs Criterio de evaluación	VALOR MEDIO	95% INTERVALO DE CONFIANZA
SENSIBILIDAD	100%	93,0 - 100%
ESPECIFICIDAD	100%	95,2 - 100%
VPP	100%	93,0 - 100%
VPN	100%	95,2 - 100%
PRECISIÓN	100%	97,1 - 100%

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

REACTIVIDAD CRUZADA

Se llevó a cabo una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de biotical C. difficile GDH Card; no se han detectado reacciones cruzadas con patógenos gastrointestinales, otros organismos fecales, sustancias y/o marcadores presentes ocasionalmente en las heces.

Adenovirus
Astrovirus
Calprotectina humana
Campylobacter coli
Campylobacter jejuni
Clostridium difficile Toxin A
Clostridium difficile Toxin B
Clostridium perfringens
Entamoeba histolytica
Escherichia coli O111
Escherichia coli O26
Escherichia coli O157
Clostridium Difficile GDH

Helicobacter pylori
Hemoglobina bovina
Hemoglobina porcina
Hemoglobina humana
Lactoferrina bovina
Lactoferrina humana
Legionella pneumophila
Listeria monocytogenes
Norovirus G1
Norovirus GII
Rotavirus
Salmonella enteritidis
Salmonella paratyphi A

Salmonella typhi
Salmonella typhimurium
Shigella boydii
Shigella dysenteriae
Shigella flexneri
Shigella sonnei
Streptococcus pneumococcal
Streptococcus pyogenes
Transferrina bovina
Transferrina humana
Yersinia Enterocolitica O:3
Yersinia Enterocolitica O:9

SÍMBOLOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS DE IVD



Producto para diagnóstico *in vitro*



Consultar las instrucciones de uso



Almacenar en lugar seco



Fecha de caducidad



Limitación de temperatura



Fabricante



Contiene <n> test

DIL

Diluyente de muestra

LOT

Número de lote

REF

Número de referencia





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.



Sierra de Guadarrama, 1.
28830 San Fernando de Henares. Madrid
Tel.: + 34 91 677 43 08

info@biotical.es
www.biotical.es



biotical health S.L.U.

