

RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH

REF C0701



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH es un inmunoensayo enzimático para la detección cualitativa de glutamato deshidrogenasa específica de *Clostridium difficile* en muestras de heces humanas.

2. Resumen y descripción del ensayo

Clostridium difficile son bacterias anaerobias estrictas con forma de bacilo que forman esporas y forman parte de las heces humanas normales. En el 2016 se propuso reclasificar a la bacteria como *Clostridioides difficile*. En el uso actual, ambos nombres son aceptables.

En condiciones normales, la tasa de colonización de estos patógenos, generalmente inocuos, es muy alta en los primeros años de vida, pudiendo alcanzar el 80 %. Esta tasa disminuye de forma constante con el paso de los años y no representa más de 2 % a 10 % en la edad adulta. No obstante, en determinadas condiciones como, por ejemplo, un ingreso hospitalario, puede superar ligeramente el 30 %. El factor determinante para una infección con *Clostridium difficile* (ICD) es la formación de las toxinas de alto peso molecular A (enterotoxina) y B (citotoxina). Teniendo en cuenta que algunas cepas de *Clostridium difficile* no producen las toxinas y que aproximadamente el 2 - 8 % de los adultos sanos y hasta el 80 % de los niños menores de dos años pueden ser colonizados por *Clostridium difficile*, la identificación de las toxinas A y B, por sí misma, tiene una significancia patognomónica en el caso de sospecha de diarrea asociada con *C. difficile* (CDAD). Sin embargo, esto depende de la colonización eficaz del intestino grueso con bacterias *C. difficile* capaces de formar suficientes cantidades de toxina. Una reducción de la flora intestinal protectora promueve la colonización. El desequilibrio debido a los tratamientos antibióticos, por ejemplo, y otros factores capaces de evitar la inmunidad intestinal, pueden favorecer la propagación de cepas de *C. difficile* con una amplia resistencia, cada vez mayor, a diversos antibióticos. Otros factores de virulencia, como el aumento de la producción de toxinas debido a deficiencias de regulación de varias cepas recientemente definidas, han convertido a *C. difficile* en un patógeno "reemergente" con una patogenia que no se limita ya a las personas que desarrollan una infección con *Clostridium difficile* (ICD) después de un tratamiento antibiótico, sino que afecta cada vez más también a personas que no han estado en tratamiento ni hospitalizadas. La creciente importancia de este microorganismo, especialmente como patógeno nosocomial, ha propiciado el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos y, sobre todo, de nuevos algoritmos para el diagnóstico de infecciones con *C. difficile*. El principal objetivo es la identificación de *C. difficile* para evitar la transmisión a pacientes hospitalizados de cepas de *C. difficile* tanto toxigénicas como no toxigénicas. La enzima glutamato deshidrogenasa (GDH), la cual se encuentra ampliamente presente en muchos organismos y en altas cantidades, ha probado ser un marcador de tamizaje sensible. Puesto que esta enzima se encuentra en muchas de las bacterias intestinales, los

sistemas de identificación deben poder detectar la GDH específica de *C. difficile* con una especificidad confiable y un alto grado de sensibilidad.

El inmunoensayo enzimático RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH actual cumple sobradamente con ambos requisitos. Aunque este EIA no puede sustituir a la identificación obligatoria de las toxinas A y B como prueba de una ICD, mejora la detección confiable de este importante patógeno nosocomial cuando se realiza antes o en paralelo al ELISA RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B. Solamente los síntomas específicos de esta enfermedad y la identificación de las toxinas A y B hacen posible el diagnóstico de una ICD y la adopción de una decisión terapéutica adecuada.

3. Principio del ensayo

El ensayo RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH utiliza anticuerpos monoclonales en un método de sándwich. Los anticuerpos monoclonales contra la glutamato deshidrogenasa de *Clostridium difficile* se unen a la superficie de los pocillos de la placa de microtitulación.

Se pipetea una suspensión de la muestra de heces que se desea analizar y de los controles en los pocillos de la placa de microtitulación junto con anticuerpos anti-GDH biotinilados (conjugado 1), y se incuba todo a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Después de un paso de lavado, se agrega conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina (conjugado 2) y se incuba nuevamente a temperatura ambiente (20 - 25 °C). La GDH específica de *Clostridium difficile* presente en la muestra forma un complejo de sándwich que consta de anticuerpos inmovilizados, GDH y anticuerpos conjugados. En otro paso de lavado se elimina el conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina no unido. En las muestras positivas, la adición de un sustrato hace que la enzima unida cambie el color de la solución de incolora a azul en los pocillos de la placa de microtitulación. La adición de un reactivo de parada hace que la coloración cambie de azul a amarillo. La extinción es proporcional a la concentración de GDH de *Clostridium difficile* presente en la muestra.

4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 96 determinaciones.

Tabla 1: Reactivos suministrados

Plate	96 ensayos	Placa de microtitulación; 12 tiras de microtitulación (desprendibles) en un portatiras; recubiertas con anticuerpos específicos (de ratón) contra glutamato deshidrogenasa específico de <i>Clostridium difficile</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampón de dilución de muestras 1, solución salina tamponada con proteína, lista para usar, color azul
Wash buffer	100 ml	Tampón de lavado, solución salina tamponada con fosfato (concentración 10x); contiene timerosal 0.1 %
Control +	2 ml	Control positivo, proteína de GDH inactivada, listo para usar
Control -	2 ml	Control negativo (tampón de dilución de muestras), listo para usar
Conjugate 1	13 ml	Anticuerpos (ratón) conjugados con biotina contra glutamato deshidrogenasa específica de <i>Clostridium difficile</i> en solución proteica estabilizada; listo para usar, color verde
Conjugate 2	13 ml	Conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina en solución proteica estabilizada, listo para usar, color naranja
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrógeno/TMB; listo para usar
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N; listo para usar

Los materiales peligrosos se indican de acuerdo con las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consultar las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse a 2 - 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. El tampón de lavado diluido tiene una vida útil de cuatro semanas si se almacena a 2 - 8 °C y de una **semana si se almacena a (20 - 25 °C)**. Debe evitarse la contaminación microbiana. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida.

Cuando se almacena correctamente a 2 - 8 °C, el kit abierto puede usarse durante un mínimo de seis semanas.

Abra la bolsa de aluminio con tijeras, sin que se separe el precinto de seguridad. Las tiras de microtitulación que no se necesiten deben devolverse de inmediato a la bolsa de aluminio y almacenarse a 2 - 8 °C.

El sustrato incoloro debe protegerse de la luz directa para evitar la descomposición o el viraje a color azul por efecto de la autooxidación. No utilice el sustrato si ha virado a color azul.

6. Reactivos necesarios no suministrados

6.1 Reactivos necesarios

Los reactivos siguientes se necesitan para realizar el ensayo de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH:

Reactivos
Agua destilada o desionizada

6.2 Equipo necesario

El equipo indicado a continuación se necesita para realizar el ensayo de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH:

Equipo
Viales de muestras
Pipetas desechables (ref. Z0001)
Mezclador de vórtice (opcional, consulte 9.3.)
Micropipeta para volúmenes de 50 – 100 µl y 1 ml
Probeta graduada (1000 ml)
Cronómetro
Dispositivo de lavado de placas de microtitulación o pipetas multicanal (300 µl)
Fotómetro para placas de microtitulación (450 nm, filtro de referencia 620 a 650 nm)
Papel de filtro (toallitas de laboratorio)

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.

Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Deben respetarse las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Siga siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo esta prueba. No pipetee las muestras y los reactivos con la boca, y evite el contacto con lesiones de la piel y mucosas. Use equipo de protección personal (guantes, bata, gafas de protección adecuados) al manipular las muestras y lávese las manos después de finalizar el ensayo. No fume, coma ni beba en las zonas en que se manipulen las muestras.

Para obtener más información, consultar las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

El control positivo incluido en el kit contiene proteína recombinante de GDH. Debe tratarse como material potencialmente infeccioso y manejarse de acuerdo con lo establecido en las normativas de seguridad nacionales, igual que las muestras de los pacientes.

El tampón de lavado contiene timerosal al 0,1 % como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

Los usuarios son responsables de desechar de manera correcta y responsable todos los reactivos y materiales usados. Respete la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

Las muestras de heces deben obtenerse lo antes posible, en un plazo de tres días a partir de los primeros síntomas de diarrea. Almacene el material del ensayo a 2 – 8 °C hasta el momento de usarlo. Si el material no puede usarse en ensayos en un plazo de tres días, se recomienda almacenarlo a 20 °C o menos. Evite congelar y descongelar repetidamente la muestra. Una muestra de heces diluida en el tampón de dilución de muestras 1:11 puede almacenarse a 2 - 8 °C durante un máximo de tres días (tabla 2).

Tabla 2: Almacenamiento de muestras

Muestra de heces sin diluir		Muestra de heces diluida
2 °C a 8 °C	≤ -20 °C	2 °C a 8 °C
≤ 3 días	> 3 días	≤ 3 días

No guarde las muestras de heces y los frotis rectales en recipientes que contengan medios de transporte con conservantes, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes, ya que pueden interferir con el ensayo RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH. En caso de utilizar frotis rectales, compruebe si el volumen de materia fecal es suficiente (aprox. 100 mg) para el ensayo. El seguimiento de los contactos debe incluir muestras de heces de las

personas contactadas que no presenten síntomas clínicos para poder identificar a los portadores asintomáticos.

9. Ejecución de la prueba

9.1. Información general

Todos los reactivos y la placa de microtitulación [Plate] deben equilibrarse a la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de utilizarlos. Una vez que hayan alcanzado la temperatura ambiente, extraiga las tiras de microtitulación de la bolsa de aluminio. Mezcle bien los reactivos inmediatamente antes de usarlos. Después de usarlos, vuelva a almacenar las tiras de pocillos (en bolsas selladas) y los reactivos a 2 - 8 °C.

Una vez usadas, las tiras de microtitulación no deben volver a usarse. No utilice reactivos ni tiras de microtitulación si el envase está dañado o los recipientes no están cerrados herméticamente.

Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit.

No realice el ensayo bajo la luz solar directa. Recomendamos cubrir la placa de microtitulación o sellarla con un envoltorio plástico para evitar pérdidas por evaporación.

9.2. Preparación del tampón de lavado

Mezcle 1 parte de tampón de lavado [Wash buffer] concentrado con 9 partes de agua destilada. El concentrado debe calentarse antes (baño maría a 37 °C) para disolver los posibles cristales presentes.

9.3 Preparación de las muestras

Llene un tubo de ensayo etiquetado con un 1 ml de tampón de dilución de muestras [Diluent | 1]. Utilice una pipeta desechable (ref. Z0001) para aspirar una muestra de heces líquida (aprox. 100 µl) hasta justo por encima de la segunda marca y añádala al tampón del tubo de ensayo para formar una suspensión. Si se emplean muestras de heces sólidas, agregue una cantidad equivalente de la muestra de heces (aproximadamente 50 a 100 mg) con una espátula o asa de inoculación desechable, y forme una suspensión.

Homogenice la suspensión de heces mediante aspiración y expulsión con una pipeta desechable o mediante agitación en un mezclador de vórtice. Deje reposar brevemente (10 min.) la suspensión para que se sedimenten las partículas de heces gruesas; el sobrenadante clarificado de la suspensión puede usarse directamente en el ensayo. Si la ejecución de la prueba se realiza en un sistema ELISA automatizado, el sobrenadante no debe contener partículas. En este caso, es aconsejable centrifugar la 2500 x g durante 5 minutos.

Nota: Las muestras de heces diluidas en **Diluent | 1** también pueden usarse en otros RIDASCREEN® ELISA que usen el **Diluent | 1**.

9.4 Primera incubación

Después de llenar un número suficiente de pocillos del portatiras, pipetee en los pocillos 100 µl del control positivo **Control | +**, del control negativo **Control | -** o de **la suspensión de muestras de heces**. Después, agregue 100 µl del anticuerpo conjugado con biotina **Conjugate | 1** y mezcle (golpeando suavemente contra el borde de la placa); incube a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 60 minutos.

9.5 Lavado

Es fundamental realizar un lavado exhaustivo si se quieren obtener resultados correctos y, en consecuencia, deben respetarse rigurosamente los pasos de lavado especificados en las instrucciones. Vacíe el contenido incubado de los pocillos en un recipiente de residuos para su eliminación de acuerdo con la normativa oficial. Después, golpee la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad residual. A continuación, lave la placa cinco veces con 300 µl de tampón de lavado diluido **Wash buffer** cada vez. Después de cada paso de lavado, sacuda los pocillos sobre un papel absorbente seco y limpio para verificar que estén completamente vacíos.

Si se utiliza un equipo de limpieza de microplacas o un equipo de ELISA automático, compruebe que esté ajustado correctamente; solicite la configuración al fabricante, si es necesario. Los equipos suministrados por R-Biopharm ya están programados con valores y protocolos de trabajo validados. Con el fin de no bloquear las boquillas de lavado, utilice solamente suspensiones de heces libres de partículas (consulte el punto 9.3., Preparación de las muestras). Verifique asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada paso de lavado.

9.6 Segunda incubación

Pipetee 100 µl de conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina **Conjugate 2 |** en los pocillos e incube a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 30 min.

9.7 Lavado

Lave según se describe en el punto 9.5.

9.8 Tercera incubación

Agregue 100 µl de sustrato **Substrate** a cada pocillo. Enseguida, incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 15 minutos en la oscuridad. Después, pare la reacción agregando 50 µl de reactivo de parada **Stop** a cada pocillo. Tras mezclar con cuidado (golpeando ligeramente en el lado de la placa), mida la extinción **a 450 nm y a una longitud de onda de referencia de 620 nm.**

Nota: En las muestras de pacientes positivas altas pueden formarse precipitados de sustrato de color negro.

9.9 Protocolo de ensayo abreviado

Los tiempos de incubación descritos en las secciones 9.4, 9.6 y 9.8 pueden reducirse significativamente si la placa se incuba a 37 °C con una frecuencia de vibración de 20 a 25 Hz (DSX-, fabricado por Dynex). Los tiempos de incubación varían de la forma siguiente:

1.^a incubación: 30 min

2.^a incubación: 15 min

3.^a incubación: 15 min

Pueden usarse asimismo agitadores de placas de microtitulación, como el Termomixer fabricado por Eppendorf (ajuste de frecuencia: 850 rpm) o el DTS-2 fabricado por LTF Labortechnik (ajuste de frecuencia: 800 rpm).

10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o deterioro de los reactivos

A efectos de control de calidad, deben utilizarse controles positivos y negativos cada vez que se realice el ensayo, a fin de garantizar que los reactivos sean estables y que el ensayo se realice correctamente. **El ensayo se realizó correctamente si el valor de extinción (DO) del control negativo a 450/620 nm es inferior a 0.160 y el valor medido del control positivo a 450/620 nm es superior a 0.8.** Un valor mayor que 0.160 para el control negativo puede indicar que un lavado insuficiente. La desviación de los valores requeridos, al igual que la turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de agregarlo a los pocillos, pueden indicar que los reactivos están vencidos.

Si no se alcanzan los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de vencimiento de los reactivos utilizados
- Desempeño funcional del equipo utilizado (p. ej., calibración)
- Ejecución correcta de la prueba
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas; no utilice soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si los requisitos siguen sin cumplirse después de repetir el ensayo, consulte al fabricante o al distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1 Cálculo del corte

Con objeto de establecer el **valor de corte**, se suman 0.10 unidades de extinción a la extinción medida para el control negativo.

Corte = extinción del control negativo + 0.10

11.2 Resultados del ensayo

La evaluación de la muestra es positiva si la tasa de extinción supera en más del 10 % el valor de corte calculado.

Las muestras consideradas en el límite y que hay que volver a analizar son aquellas que tienen una tasa de extinción que varía entre ≤ 10 % por encima a ≤ 10 % por debajo del valor de corte. Si los resultados de los ensayos repetidos de una muestra de heces recién preparada se encuentran nuevamente dentro del área gris, se considerará que la muestra está en el límite.

Las muestras que se encuentren 10 % por debajo del valor de corte calculado deben considerarse negativas.

12. Limitaciones del método

El ensayo RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH detecta la glutamato deshidrogenasa específica de *Clostridium difficile* en muestras de heces. El nivel de extinción determinado no puede asociarse con la presencia o gravedad de los síntomas clínicos. La ICD solo puede diagnosticarse con un alto grado de certeza con el ensayo RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B ELISA y los síntomas clínicos.

Un resultado positivo no descarta la presencia de otros patógenos infecciosos u otras causas.

Un resultado negativo no descarta la posibilidad de infección con *C. difficile*. Dicho resultado puede deberse a la excreción intermitente del patógeno o a una cantidad demasiado baja de antígeno en la muestra. Si los antecedentes del paciente apoyan la sospecha de ICD, deberá repetirse la prueba con otra muestra de heces.

Un resultado límite puede deberse a la distribución no homogénea de los antígenos en la muestra de heces. En ese caso, se debe analizar una segunda suspensión de la misma muestra o solicitar otra muestra de heces para realizar la prueba.

13. Características de rendimiento

13.1 Calidad del ensayo

En un estudio de validación retrospectivo con RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA se analizaron 92 muestras de heces. Las muestras descongeladas se homogeneizaron y analizaron en un ensayo comparativo entre RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA y otro ELISA comercial. Los resultados del estudio se resumen en la tabla 3.

Tabla 3: Comparación entre RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA y un ELISA comercial

		ELISA de la competencia	
		+	-
RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH	+	30	7
	-	0	55

Concordancia positiva: 89.6 %

Coincidencia negativa: 94.0 %

13.2 Sensibilidad analítica

Para determinar la sensibilidad analítica de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA, se determinó el límite del blanco (LB) con 90 ensayos de muestras de heces negativas. Después, se determinó el límite de detección (LD) con 72 ensayos de proteína recombinante de glutamato deshidrogenasa. Los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4: Resultados de sensibilidad analítica de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA

	MV [DO 450/620]	ng/ml
LB	0.018	-
LD	-	0.024

13.3 Reactividad cruzada

Se analizaron diferentes microorganismos patógenos del tubo digestivo con RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA y no se observó reactividad cruzada. Estos estudios se realizaron con suspensiones bacterianas a concentraciones de 10^6 a 10^9 microorganismos por ml. Los sobrenadantes de los cultivos víricos y las muestras de heces se resumen en la lista correspondiente. Los resultados del estudio se muestran en la tabla 5

Tabla 5: Reactividad cruzada con microorganismos patógenos

Microorganismo	Origen	MV [DO 450/620]
Adenovirus	Sobrenadante de cultivo	-0.010
Aeromonas hydrophila	Cultivo	-0.010
Astrovirus	Sobrenadante de cultivo	-0.006
Bacillus cereus	Cultivo	-0.012
Bacteroides fragilis	Cultivo	-0.004
Campylobacter coli	Cultivo	-0.008
Campylobacter jejuni	Cultivo	-0.011
Candida albicans	Cultivo	-0.007
Citrobacter freundii	Cultivo	-0.006
Clostridium bifermentans	Cultivo	-0.004
Clostridium difficile	Cultivo	3.472
Clostridium novyi	Cultivo	-0.007
Clostridium perfringens	Cultivo	-0.007
Clostridium sordellii	Cultivo	-0.009
Clostridium sporogenes	Cultivo	-0.011
Cryptosporidium muris	Cultivo	-0.005
Cryptosporidium parvum	Cultivo	-0.010
E. coli (O157:H7)	Cultivo	-0.006
E. coli (O26:H-)	Cultivo	-0.006
E. coli (O6)	Cultivo	-0.001
Entamoeba histolytica	Heces	-0.001
Enterobacter cloacae	Cultivo	-0.001
Enterococcus faecalis	Cultivo	-0.004
Giardia lamblia	Heces	0.001
Klebsiella oxytoca	Cultivo	-0.005
Norovirus Ag, tipo Desert Shield	Cápside	-0.004
Norovirus Ag, tipo Hawaii	Cápside	-0.004
Norovirus Ag md 14S	Cápside	-0.008
Norovirus Ag, tipo Norwalk	Cápside	0.000
Norovirus Ag, tipo Snow Mountain	Cápside	-0.001
Norovirus Ag, tipo Toronto	Cápside	-0.005
Proteus vulgaris	Cultivo	-0.009
Pseudomonas aeruginosa	Cultivo	-0.015

Microorganismo	Origen	MV [DO 450/620]
Rotavirus	Sobrenadante de cultivo	-0.011
Salmonella enteritidis	Cultivo	-0.004
Salmonella typhimurium	Cultivo	-0.005
Serratia liquefaciens	Cultivo	-0.006
Shigella flexneri	Cultivo	-0.005
Staphylococcus aureus	Cultivo	-0.009
Staphylococcus epidermidis	Cultivo	-0.012
Vibrio parahaemolyticus	Cultivo	-0.009
Yersinia enterocolitica	Cultivo	-0.007

13.4 Precisión

La reproducibilidad de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA se analizó con seis referencias que representaban el rango de medición completo, desde negativo hasta positivo alto. Para determinar la reproducibilidad intraensayo se analizaron 40 réplicas de estas referencias. Se determinaron las medias y los coeficientes de variación (CV) de tres lotes. Para la reproducibilidad entre ensayos se analizaron por duplicad referencias de 10 días laborales diferentes, con 2 ensayos por día. 4 técnicos realizaron las mediciones en 3 lotes. La reproducibilidad entre lotes se determinó para los 3 lotes. Los resultados se muestran en la tabla 6.

Tabla 6: Resultados de reproducibilidad/precisión de RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA

Referencia	Valor medio/CV	Intraensayo			Entre ensayos			Entre lotes
		Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lotes kit 1-3
1	VM	2.333	2.192	2.438	2.504	2.411	2.376	2.430
	CV (%)	8.10 %	6.71 %	4.23 %	5.65 %	7.84 %	8.14 %	7.59 %
2	VM	1.804	1.593	1.741	1.935	1.907	1.871	1.904
	CV (%)	5.24 %	6.73 %	5.34 %	6.82 %	9.26 %	9.29 %	8.51 %
3	VM	1.477	1.312	1.436	1.531	1.561	1.481	1.525
	CV (%)	7.74 %	8.91 %	6.88 %	7.91 %	10.95 %	9.64 %	9.76 %
4	VM	1.125	0.888	0.951	1.139	1.183	1.117	1.146
	CV (%)	8.25 %	8.24 %	8.55 %	8.05 %	11.49 %	11.55 %	10.67 %

Referencia	Valor medio/CV	Intraensayo			Entre ensayos			Entre lotes
		Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lote kit 1	Lote kit 2	Lote kit 3	Lotes kit 1–3
5	VM	0.697	0.590	0.714	0.729	0.776	0.708	0.738
	CV (%)	8.06 %	10.13 %	13.78 %	9.88 %	11.51 %	13.59 %	12.38 %
6	VM	-0.003	-0.003	-0.007	0.008	-0.001	-0.002	0.002
	CV (%)	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d	n/d

13.5 Sustancias interferentes

Las sustancias que se enumeran a continuación no mostraron ningún efecto en los resultados de la prueba cuando se mezclaron con muestras de heces positivas y negativas para *C. difficile* a las concentraciones descritas:

Mucina	5.0 % p/p	Diclofenaco	0.1 % v/p
Sangre humana	5.0 % v/p	Ciclamato	1.3 % v/p
Sulfato de bario	18.5 % p/p	Metronidazol	3.0 % p/p
Loperamida	0.02 % p/p	Hemoglobina	5.0 % v/p
Pepto-Bismol	6.3 % v/p	Vancomicina	3.0 % p/p
Ácido esteárico/ ácido palmítico	40 % p/p (1:1)		

14. Historial de versiones

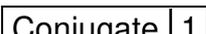
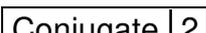
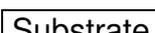
Número de versión	Sección y designación
2017-04-20	Versión anterior
2020-02-18	Revisión general 2 Resumen y descripción del ensayo 4 Reactivos suministrados 5 Instrucciones de almacenamiento 8 Obtención y almacenamiento de muestras 9.2. Preparación del tampón de lavado 9.5. Lavado 9.8. Tercera incubación 10 Control de calidad: indicación de inestabilidad o deterioro de los reactivos 11. Evaluación e interpretación 13. Características de rendimiento 15. Explicación de los símbolos 16. Bibliografía

15 Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de ensayos
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos de prueba

	Placa de microtitulación
	Tampón de dilución de muestras 1
	Tampón de lavado
	Control positivo
	Control negativo
	Conjugado 1
	Conjugado 2
	Sustrato
	Reactivo de parada

16. Bibliografía

1. Lyerly, D.M. et al.: Clostridium difficile: Its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. (1988); 1: 1-18.
2. Knoop, F.C. et al.: Clostridium difficile: Clinical disease and diagnosis. Clin. Microb. Rev. (1993); 6: 251-265.
3. Kelly, C.P. et al.: Clostridium difficile Colitis. New Engl. J. Med. (1994); 330: 257-262.
4. Sullivan, N.M. et al.: Purification and characterization of toxins A and B of Clostridium difficile. Infect. Immun. (1982); 35: 1032-1040.
5. Thomas, D.R. et al.: Postantibiotic colonization with Clostridium difficile in nursing home patients. J. Am Geriatr. Soc. 38, 415-420 (1990).
6. Bartlett, J.G.: Clostridium difficile: Clinical considerations. Rev. Infect. Dis. (1990); 12: 243-251.
7. Cefai, C. et al.: Gastrointestinal carriage rate of Clostridium difficile in elderly, chronic care hospital patients. J. Hosp. Infect. (1988); 11: 335-339.
8. Asha, N.J. et al.: Comparative analysis of prevalence, risk factors and molecular epidemiology of Antibiotic –associated diarrhea due to Clostridium difficile, Clostridium perfringens, and Staphylococcus aureus. J.Clin. Microbiol. (2006); 44: 2785-2791.
9. Voth, D.E., Ballard, J.: Clostridium difficile toxins: Mechanism of action and role in disease. J.Clin. Microbiol. (2005); 18: 247-263.
10. Borgmann, S. et al.: Increased number of Clostridium difficile infections and prevalence of Clostridium difficile PCR ribotype 001 in southern Germany. Eurosurveillance (2008); Vol 13: No.49.
11. Mc.Donald, L.C. et al.: An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N.Engl.J.Med. (2005); 353: 23.
12. Loo, V.G. et al.: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. N.Engl.J.Med. (2005); 353:23
13. Bartlett, J.G. , Gerding, D.N.: Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. CID (2008); 46(Suppl. 1): 12-18.
14. Kufelnicka, A.M. , Kirn, T.J.: Effective utilization of evolving methods for laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. Clin.Infect. Dis. (2011)52: 1451-1457
15. Riggs, M.S.A. et al.: Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic Clostridium difficile strains among long-term care facility residents. Clin. Infect. Dis.(2007)45:992-998
16. Lawson, P.A., et al.: Reclassification of Clostridium difficile as Clostridioides difficile (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. Anaerobe (2016)40: 95-9
17. Oren, A. , Rupnik M.: Clostridium difficile and Clostridioides difficile: Two validly published and correct names. Anaerobe (2018)52:125-126.