



Solana[®]
C. difficile ASSAY

PARA USO CON SOLANA

Para la detección cualitativa directa del gen que codifica la toxina A de *Clostridioides (Clostridium) difficile* (tcdA) en muestras de heces no formadas de pacientes con sospecha de infección por *Clostridioides difficile* (CDI).

Para uso diagnóstico *in vitro*

Se puede encontrar un glosario de símbolos en quidel.com/glossary.

ÍNDICE

USO PREVISTO	2
RESUMEN Y EXPLICACIÓN	2
PRINCIPIO DE LA PRUEBA	2
MATERIALES SUMINISTRADOS	3
MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS	3
ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES	3
CONSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT	4
OBTENCIÓN, CONSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS	4
PROCEDIMIENTO ANALÍTICO	4
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	5
CONTROL DE CALIDAD	5
LIMITACIONES	6
VALORES ESPERADOS	6
RENDIMIENTO CLÍNICO	6
Rendimiento en comparación con un cultivo bacteriano toxigénico enriquecido con caldo de cultivo	7
Rendimiento en comparación con el dispositivo molecular aprobado por la FDA	7
RENDIMIENTO ANALÍTICO	7
Límite de detección	7
Reactividad analítica (inclusividad)	8
Estudio de reproducibilidad	8
Especificidad analítica: reactividad cruzada e interferencia microbiana	9
Especificidad analítica: sustancias interferentes	10

Contaminación por arrastre y contaminación cruzada	11
ASISTENCIA TÉCNICA Y AL CLIENTE	11
REFERENCIAS	12
GLOSARIO	14



USO PREVISTO

El Solana C. difficile Assay es una prueba diagnóstica *in vitro* para la detección cualitativa directa del gen que codifica la toxina A de *Clostridioides (Clostridium) difficile* (*tcdA*) en muestras de heces no formadas de pacientes con sospecha de infección por *Clostridioides (Clostridium) difficile* (CDI). El Solana C. difficile Assay está previsto como una ayuda en el diagnóstico de CDI. El ensayo utiliza una amplificación dependiente de helicasa (HDA) para la amplificación de un fragmento altamente conservado de la secuencia génica de la toxina A. El Solana C. difficile Assay está previsto para uso exclusivo con el instrumento Solana.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN

Clostridioides (Clostridium) difficile es el patógeno entérico identificado con mayor frecuencia en pacientes con diarrea y colitis asociadas con el uso de antibióticos. En Estados Unidos la infección por *C. difficile* genera anualmente cerca de medio millón de infecciones entre los pacientes de este país.¹ El resultado de estas infecciones es un aumento considerable del tiempo de estancia hospitalaria y un gasto en atención sanitaria que supera los 1100 millones de USD.² Recientemente han aumentado la incidencia y la gravedad de la enfermedad asociada con *C. difficile* correspondientes a estancias hospitalarias de corta duración.^{3,4}

La mayoría de las infecciones por *C. difficile* son intrahospitalarias y casi ningún paciente muestra síntomas después de contraerla. Se supone que la exposición a los antibióticos altera la flora intestinal, lo que facilita la colonización oportunista por *C. difficile*. Se sospecha que la virulencia de *C. difficile* está mediada por la producción de dos toxinas (toxina A y toxina B). Sin embargo, para la patogenidad no es necesaria la presencia de las toxinas proteicas A y B.⁶ Los genes de ambas toxinas (*tcdA* y *tcdB*, respectivamente) están ubicados en un locus de patogenidad (PaLoc) de 19,6 Kb, que se encuentra en el genoma de todas las cepas toxogénicas de *C. difficile*.⁷ El Solana C. difficile Assay actúa en una región altamente conservada del PaLoc, que está intacta en todos los toxinotipos A+B+ y A-B+ de *C. difficile*.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El Solana C. difficile Assay combina el procesamiento simple de muestras con la amplificación dependiente de helicasa (HDA) realizada en el instrumento Solana para la detección directa de *Clostridioides (Clostridium) difficile* toxigénico en las muestras de heces diarreicas con sospecha de CDI.

Con la ayuda de un hisopo se transfiere una pequeña cantidad de muestra a un tubo de lisis. A continuación somete el tubo de lisis a un tratamiento térmico a 95 ° C durante 5 minutos. La muestra tratada térmicamente se dispone en un tubo de dilución y después se transfiere a un tubo de reacción. El tubo de reacción contiene reactivos liofilizados para HDA, dNTP, iniciadores y sondas. Una vez rehidratado con la muestra diluida, el tubo de reacción se coloca en el instrumento Solana para la amplificación y detección de la secuencia diana. En Solana la secuencia diana se amplifica con iniciadores específicos y se detecta con una sonda de fluorescencia específica contenida en el tubo de reacción. En el tubo de lisis se introduce un control competitivo del proceso (PRC) para controlar el procesamiento de la muestra, los inhibidores de las muestras clínicas y la ineficacia del reactivo o el fallo del dispositivo. El PRC se amplifica con iniciadores específicos de la diana y se detecta con una sonda de fluorescencia específica del PRC.

Las sondas diana y del PRC se marcan con un colorante de extinción en un extremo y un fluoróforo en el otro. Después de su hibridación en los amplicones de la diana o del PRC, la señal de fluorescencia aumenta debido a la separación física entre el fluoróforo y el colorante de extinción. El instrumento Solana mide e interpreta la señal de fluorescencia usando algoritmos propios específicos del método. A continuación, el instrumento Solana muestra en pantalla al usuario los resultados de la prueba, que se pueden imprimir a través de la impresora.

MATERIALES SUMINISTRADOS

Cat. #M307

48 pruebas por kit

Componente	Cantidad	Conservación
Hisopos floqueados neonatales	48 tubos/kit	De 2 °C a 30 °C
Tampón de lisis	48 tubos/kit 1,0 ml	De 2 °C a 8 °C
Tampón de dilución	48 tubos/kit 1,8 ml	De 2 °C a 8 °C
Tubos de reacción	48 tubos/kit	De 2 °C a 8 °C

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

- Controles externos para *C. difficile* toxigénico (p. ej., materiales de control interno propios del laboratorio de muestras clínicas aisladas y caracterizadas ya enviadas para interpretación o conjunto de control molecular Quidel para *C. difficile* [Quidel Molecular *C. difficile* Control Set], Cat. #M108; estos controles pueden actuar de controles externos de procesamiento y amplificación y son independientes del PRC).
- Puntas de micropipeta de desplazamiento positivo o con filtro bloqueado sin DNasa, estériles
- Micropipeta
- Cronómetro o temporizador
- Agitador vórtex
- Tijeras (para separar los tubos de reacción)
- Bandeja de procesamiento Solana y gradilla de transferencia
- Bloque térmico con capacidad térmica de hasta 95 °C ± 2 °C
- Termómetro
- Instrumento Solana

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Consulte en el Manual del usuario de Solana información más detallada sobre la instalación y el funcionamiento del instrumento.
- Utilice únicamente el protocolo descrito en este folleto. Las desviaciones del protocolo pueden generar resultados erróneos.
- Todos los reactivos son exclusivamente para uso diagnóstico *in vitro*.
- Considere todas las muestras como potencialmente infecciosas. Siga las precauciones universales durante la manipulación de las muestras, del kit y de su contenido.
- Cerrar bien todos los tubos con su tapa antes de proceder a su mezclado en el vórtex.
- Los procedimientos adecuados de obtención, conservación y transporte de las muestras son fundamentales para la obtención de resultados correctos.
- Conserve los reactivos del ensayo tal como se indica en las etiquetas de cada uno de ellos.
- Los reactivos no son intercambiables entre lotes.
- No mezcle nunca reactivos de tubos diferentes, aunque procedan del mismo lote.
- No utilice los reactivos después de su fecha de caducidad.
- No utilice los componentes de los kits que presenten signos de rotura o estén dañados.
- No intercambie las tapas entre los reactivos, ya que pueden contaminarse y afectar a los resultados de la prueba.
- Abra solo los tubos cuando vaya a añadir alícuotas en ellos o a extraer alícuotas de ellos. Mantenga los tubos cerrados en todo momento para evitar su contaminación.
- Para evitar la contaminación del entorno con amplicones, no abra los tubos de reacción después de la amplificación.
- Evite la contaminación microbiana y por desoxirribonucleasa (DNasa) de los reactivos al extraer porciones alícuotas de los tubos. Se recomienda el uso de puntas de pipeta de desplazamiento positivo o con filtro bloqueado sin DNasa, desechables y estériles.
- Utilice una nueva punta de pipeta por cada muestra o reactivo.
- La realización del ensayo fuera de los plazos de tiempo recomendados puede generar resultados no válidos. Los ensayos no completados en los plazos de tiempo especificados deben repetirse.
- Para evitar la exposición a un calor excesivo debe tenerse cuidado durante la introducción y retirada de los tubos del bloque térmico y la manipulación de los tubos calentados.
- Pueden analizarse más controles siguiendo las directrices o requisitos legales nacionales, regionales y/ locales o de las organizaciones de acreditación.

- No pipetee utilizando la boca.
- No fume, beba ni coma en las zonas destinadas a la manipulación de las muestras o los reactivos del kit.
- Para obtener resultados precisos, pipetee con precaución utilizando solo equipo calibrado. El uso de volúmenes imprecisos puede dar lugar a resultados erróneos.
- Limpie y desinfecte a fondo todas las superficies con una solución de lejía al 10 % seguida de agua de grado molecular.
- Utilice micropipetas con barrera para aerosoles o puntas para desplazamiento positivo en todos los procedimientos.
- La prueba debe realizarse en una zona con ventilación adecuada.
- Deseche los envases y contenidos no utilizados conforme a los requisitos reguladores nacionales, regionales y locales.
- Utilice ropa protectora, guantes y protección ocular/ facial adecuados cuando manipule el contenido del kit.
- Lávese bien las manos después de la manipulación.
- Consulte información adicional sobre los símbolos de peligro, seguridad, manipulación y eliminación de los componentes de este kit en la Ficha de datos de seguridad (FDS) (*Safety Data Sheet, SDS*), que se encuentra en quidel.com.

CONSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE LOS REACTIVOS DEL KIT

Conserve el kit del ensayo a una temperatura comprendida entre 2 °C y 8 °C respetando la fecha de caducidad indicada en el exterior de la caja del kit.

OBTENCIÓN, CONSERVACIÓN Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Tipo de muestra: muestras de heces no formadas con indicios de CDI.

Uso de un envase estéril:

1. Transfiera el líquido o la materia fecal blanda al envase estéril, procurando no transferir papel higiénico, orina, agua o jabón.
2. Etiquete el envase conforme a los procedimientos normalizados de trabajo del hospital.
3. Transporte la muestra etiquetada al laboratorio.

Conservación: Las muestras deben transportarse en contenedores de plástico herméticamente sellados y a prueba de escapes. Si las muestras se pueden procesar antes de 3-4 horas después de la recogida, el transporte a temperatura ambiente es adecuado. Las muestras enviadas al laboratorio deben congelarse enseguida y conservarse a 2 °C a 8 °C o a – 20 °C durante un máximo de 7 días. Envíe las muestras con hielo si el transporte es de largo recorrido.

PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

1. Ponga en marcha el instrumento Solana pulsando el botón de encendido y espere hasta que finalice el autoanálisis.
Nota: no abra la tapa durante el autoanálisis.
2. 25 minutos antes del paso de lisis térmica, caliente un bloque térmico a 95 °C ± 2 °C.
3. Coloque la cantidad necesaria de tubos de lisis en una gradilla. Marque los tubos de lisis en la tapa y/o el lateral del tubo.
Nota: para cada muestra o control que se vaya a analizar se necesita un (1) tubo de lisis.
Nota: en un solo instrumento Solana se pueden realizar como máximo 12 pruebas.
4. Mezcle bien la muestra fecal.
5. Recoja una muestra fecal con la ayuda de los hisopos suministrados. Sumerja el hisopo en el líquido o la muestra de heces no formadas.
Nota: no recoja un exceso de muestra. La punta del hisopo apenas debe estar recubierta por materia fecal. Utilice un nuevo hisopo para cada muestra.
6. Coloque el hisopo en un tubo de lisis con la identificación del paciente y desprenda la muestra moviendo la punta del hisopo rápidamente en sentido circular dentro del tubo de lisis durante 10 segundos. Extraiga el hisopo y elimínelo de la forma prevista en el laboratorio.
Nota: una vez añadida la muestra al tubo de lisis, proceda sin demora al Paso 7.
7. Caliente los tubos de lisis a 95 °C ± 2 °C durante 5 minutos y mézclelos en el vórtex durante 5 segundos.
Nota: inicie el procedimiento de lisis de 5 minutos cuando el bloque térmico mida 95 °C ± 2 °C. El temporizador debe detenerse si la temperatura queda fuera del rango en algún momento durante el período de 5 minutos y no se puede reiniciar hasta que el bloque térmico haya recuperado 95 °C ± 2 °C.
Nota: las muestras son estables en tampón de lisis tras el calentamiento durante un máximo de 96 horas a una temperatura de 2 °C a 8 °C y de 24 horas a 25 °C ± 2 °C.
8. Coloque la cantidad necesaria de tubos de dilución en una gradilla. Marque los tubos de dilución en la tapa y/o el lateral del tubo.
Nota: para cada muestra o control que se vaya a analizar se necesita un (1) tubo con tampón de dilución.

9. Transfiera 50 µl de cada muestra a un tubo de dilución identificado. Cierre la tapa y mezcle bien la solución mezclando los tubos en un vórtex durante 5 segundos.
Nota: para cada muestra utilice una punta de pipeta nueva.
Nota: Las muestras son estables en tampón de dilución durante un período máximo de 96 horas a una temperatura de 2 °C a 8 °C y de 25 horas a 25 °C ± 2 °C.
10. Extraiga el número necesario de tubos de reacción de la bolsa protectora, elimine el exceso de aire y cierre de nuevo la bolsa. Marque los tubos de reacción en la tapa.
11. Transfiera 50 µl de la muestra diluida al tubo de reacción etiquetado, mezcle la solución pipeteando arriba y abajo un mínimo de 3 veces y cierre la tapa. La solución debe ser transparente y sin material sólido.
Nota: para cada muestra diluida utilice una punta de pipeta nueva.
Nota: continúe inmediatamente con el siguiente paso. No deje la mezcla de reacción reconstituida reposar más de 15 minutos.
12. Utilice la gradilla de transferencia Solana para sujetar los tubos de reacción al nivel de los ojos e inspeccione visualmente cada tubo de reacción para asegurarse de la rehidratación de las microesferas.
13. Abra la tapa y coloque los tubos de reacción dentro del instrumento Solana en una gradilla de transferencia. Cierre la tapa.
Nota: asegúrese de que todos los tubos están en estrecho contacto con el bloque térmico.
14. Introduzca la ID del usuario y presione ↵ INTRODUCIR.
15. Seleccione NUEVA PRUEBA. Si el Solana muestra una pantalla diferente, regrese a la pantalla de inicio.
16. Seleccione las posiciones del tubo a utilizar.
17. Escanee el código de barras del ensayo o seleccione Ensayo de Cdiff en el menú desplegable e introduzca manualmente la ID del lote/Fecha de caducidad y pulse “▶”.
18. Seleccione el tipo de muestra (paciente o QC/Control de calidad) del menú desplegable e introduzca las ID de las muestras (opcional; vea la 2.ª nota del paso siguiente).
19. Pulse Inicio para comenzar el Solana Cdiff Assay. Solana mostrará el progreso y la cuenta hacia atrás para la finalización del ensayo, y los resultados de la prueba se mostrarán en la pantalla en más o menos 30 minutos.
Nota: para evitar la contaminación en el laboratorio, una vez cerrado el tubo e iniciada la reacción de amplificación, **NO** abra el tubo de reacción.
Nota: mientras se ejecuta la prueba, se puede introducir o editar la ID de la muestra pulsando el icono del lápiz.
20. Una vez finalizada la prueba, pulse la flecha para pasar a la pantalla de Resultados de la prueba. Los resultados se pueden imprimir seleccionando el botón de impresión.
Nota: no salga de esta pantalla antes de imprimir los resultados. Una vez desaparecida la pantalla, no podrá volver a entrar en ella. Si sucediera esto, puede ver los resultados individuales entrando en Inicio y seleccionando Examinar los resultados.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Muestras	Resultado del ensayo	Interpretación
Muestra del paciente	POSITIVA	Detectado ADN de <i>C. difficile</i> toxigénico
	NEGATIVA	No detectado ADN de <i>C. difficile</i> toxigénico/Detectado PRC
	NO VÁLIDA	ADN de <i>C. difficile</i> toxigénico no detectado y PRC no detectado; en caso de resultados de la prueba no válidos, primero analice de nuevo la misma muestra procesada. Si la prueba no es válida después de repetir la prueba con la muestra procesada, reprocese otra alícuota de la misma muestra u obtenga una nueva muestra y repita la prueba.

CONTROL DE CALIDAD

El Solana *C. difficile* assay incorpora diversos controles para monitorizar el rendimiento del ensayo.

- El control del proceso sirve para monitorizar el procesamiento de las muestras, detectar muestras que inhiben la HDA y confirmar la integridad de los reactivos del ensayo y la detección de casete. El control del proceso se incluye en el tubo con tampón de lisis.
- Los controles positivos externos se pueden tratar como una muestra de paciente. Sumerja el hisopo en el control positivo externo asegurándose de que el líquido recubra la punta. Identifique el tubo del tampón de dilución como el control positivo y continúe con el procesamiento del modo descrito anteriormente en el Procedimiento de ensayo. El objetivo del control positivo externo es controlar un fallo importante del reactivo y del instrumento.
- Los controles negativos externos se pueden tratar como una muestra de paciente. Sumerja el hisopo en el control negativo externo asegurándose de que el líquido recubra la punta. Identifique el tubo del tampón de dilución como el control negativo y continúe con el procesamiento del modo descrito anteriormente en el Procedimiento de ensayo. El

control negativo externo se usa para detectar la contaminación del reactivo o del entorno (o un efecto de arrastre) por el ADN del *C. difficile* o un amplicón.

En el momento de la recepción y antes del uso se recomienda verificar la reactividad de cada nuevo lote y de cada nuevo envío del Solana C. difficile Assay. A partir de ahí se deben efectuar pruebas de control externo de conformidad con las directrices nacionales, regionales y locales. Si los controles externos no producen los resultados correctos, no debe utilizarse el Solana C. difficile Assay para la evaluación del paciente.

LIMITACIONES

- Un resultado negativo de *C. difficile* no debe ser la única base del diagnóstico, del tratamiento o de la toma de decisiones para la gestión del paciente. Los resultados se deben interpretar junto con otros resultados clínicos y analíticos.
- Aunque no es necesario preparar los reactivos, la principal técnica de laboratorio requerida es el uso de la pipeta; para el funcionamiento adecuado de este ensayo es fundamental una correcta técnica de laboratorio. Dada la elevada sensibilidad analítica de esta prueba, se debe tener sumo cuidado para preservar la pureza de todos los reactivos, especialmente en los casos en se precisa la extracción repetida de porciones alícuotas de un tubo.
- Las mutaciones o polimorfismos en las regiones de unión del iniciador o la sonda pueden afectar a la detección de variantes nuevas o desconocidas de *C. difficile* y producir un resultado negativo falso con el Solana C. difficile Assay.
- Un resultado positivo de la prueba no necesariamente indica la presencia de microorganismos viables.
- Esta prueba detecta pero no diferencia las cepas hipervirulentas procedentes de otros genotipos toxigénicos de *C. difficile*.
- Esta prueba no indica la sensibilidad de las cepas de *C. difficile* detectadas frente a diversos agentes antimicrobianos.
- Los resultados negativos de la prueba se pueden producir por una obtención, manipulación o conservación incorrectas de la muestra, la presencia de inhibidores, errores técnicos, confusión en las muestras o debido a que la cantidad de microorganismos en la muestra es inferior a la sensibilidad analítica de la prueba. Se recomienda observar estrictamente las instrucciones de este folleto para evitar resultados erróneos. Este ensayo debe ser usado exclusivamente por personal capacitado para realizar el procedimiento.
- Esta prueba debe realizarse con muestras de heces humanas líquidas o blandas. No se han establecido las características de rendimiento de otros tipos de muestras.

VALORES ESPERADOS

Los valores esperados del Solana C. difficile Assay se establecieron durante un estudio prospectivo realizado entre noviembre de 2016 y febrero de 2017. Las ochocientas cincuenta y cuatro (854) muestras utilizadas en este estudio se obtuvieron de pacientes con sospecha de infección por *Clostridioides (Clostridium) difficile* (CDI) en tres centros geográficos diferentes de Estados Unidos. Se obtuvo una sola muestra por paciente. Las muestras se procesaron y analizaron en el Solana C. difficile Assay con el instrumento Solana en los diferentes centros.

En la tabla siguiente se indican la edad y el sexo de los pacientes en los centros combinados.

Centros combinados: distribución por edad y sexo				
Edad/Sexo	Mujer	Hombre	Total	Porcentaje total de resultados positivos con el Solana C. difficile Assay en muestras sin procesar
≤ 2 años	3	3	6	16,7 % (1/6)
De 3 a 11 años	4	6	10	20,0 % (2/10)
De 12 a 17 años	4	10	14	7,1 % (1/14)
De 18 a 21 años	11	14	25	24,0 % (6/25)
De 22 a 59 años	206	132	338	14,2 % (48/337*)
≥ 60 años	268	193	461	12,0 % (55/460*)
Total	496	358	854	13,3 % (113/852**)

*Una (1) muestra fue no válida

**Dos (2) muestras totales fueron no válidas

RENDIMIENTO CLÍNICO

Las características funcionales del Solana C. difficile Assay se establecieron en un estudio prospectivo realizado entre noviembre de 2016 y febrero de 2017. Las ochocientas cincuenta y cuatro (854) muestras utilizadas en este estudio se obtuvieron de pacientes con sospecha de infección por *Clostridioides difficile* (CDI) en tres centros geográficos diferentes de Estados Unidos. Estas muestras se analizaron sin procesar en los centros con el Solana C. difficile Assay en el día de su

recogida o después de una conservación máxima de 3 días entre 2 °C y 8 °C. Los resultados del instrumento Solana se compararon con un cultivo bacteriano toxigénico enriquecido con caldo de cultivo (sensibilidad/especificidad) y un dispositivo molecular aprobado por la FDA (concordancia porcentual positiva/negativa).

Rendimiento en comparación con un cultivo bacteriano toxigénico enriquecido con caldo de cultivo

Se analizaron ochocientas cincuenta y cuatro (854) muestras sin procesar mediante el Solana C. difficile Assay y el cultivo toxigénico enriquecido. En el caso del método de cultivo toxigénico se inocularon las muestras en caldo de glucosa de carne picada (CMG) y se subcultivaron después de 48 horas en placas de agar cefoxitina, cicloserina y fructosa-sangre de caballo (CCFA-HB). Las colonias sospechosas se caracterizaron con mayor detalle y las colonias de *C. difficile* halladas se subcultivaron en caldo CMG para el análisis posterior de citotoxinas. Dos (2) muestras (0,2 %) fueron no válidas en el Solana C. difficile Assay después de analizarlas según las instrucciones de uso preliminares del Solana C. difficile Assay. Estas dos muestras continuaron siendo no válidas después de repetir la prueba, por lo que se las excluyó del análisis posterior. Los datos siguientes corresponden a las restantes ochocientas cincuenta y dos (852) muestras.

Centros combinados: muestra sin procesar								
Solana C. difficile Assay	Cultivo toxigénico enriquecido				IC de 95 %			
		POS.	NEG.	Total				
	POS.	107	6*	113	Sensibilidad	93,0 %	86,9 %	96,4 %
	NEG.	8**	731	739	Especificidad	99,2 %	98,2 %	99,6 %
	Total	115	737	852				

* Tres (3) de las seis (6) muestras fueron positivas para el ADN del gen de la toxina de *C. difficile* con un dispositivo molecular alternativo y tres (3) fueron negativas.

**Seis (6) de ocho (8) muestras resultaron positivas para el ADN del gen de la toxina de *C. difficile* con un dispositivo molecular alternativo y dos (2) fueron negativas.

Rendimiento en comparación con el dispositivo molecular aprobado por la FDA

Se analizaron ochocientas cincuenta y cuatro (854) muestras con el Solana C. difficile Assay y el dispositivo molecular aprobado por la FDA. Dos (2) muestras (0,2 %) fueron no válidas en el Solana C. difficile Assay después de analizarlas según las instrucciones de uso preliminares del Solana C. difficile Assay. Estas dos muestras continuaron siendo no válidas después de repetir la prueba, por lo que se las excluyó del análisis posterior. Los datos siguientes corresponden a las restantes ochocientas cincuenta y dos (852) muestras.

Centros combinados: muestra sin procesar								
Solana C. difficile Assay	Dispositivo molecular aprobado por la FDA				IC de 95 %			
		POS.	NEG.	Total				
	POS.	97	16*	113	Concordancia porcentual positiva	97,0 %	91,6 %	99,0 %
	NEG.	3**	736	739	Concordancia porcentual negativa	97,9 %	96,6 %	98,7 %
	Total	100	752	852				

* Doce (12) de las dieciséis (16) muestras fueron positivas para el ADN del gen de la toxina de *C. difficile* con un dispositivo molecular alternativo y cuatro (4) fueron negativas.

**Dos (2) de tres (3) muestras resultaron positivas para el ADN del gen de la toxina de *C. difficile* con un dispositivo molecular alternativo y una (1) fue negativa.

RENDIMIENTO ANALÍTICO

Límite de detección

Se determinó el límite de detección (LOD) del Solana C. difficile Assay usando diluciones seriadas de dos (2) cepas toxigénicas de *C. difficile* (ATCC® BAA-1805 y CCUG 20309) añadidas a una matriz negativa y también ADN genómico de *C. difficile* cuantificado, BAA-1382DQ™ añadido a tampón de lisis. La sensibilidad analítica (LOD) se define como la concentración más baja a la que el 95 % de todos los duplicados tienen un resultado analítico positivo.

Matriz de materia fecal	Cepas de <i>C. difficile</i>	LOD de la cepa
Materia fecal sin conservantes	ATCC BAA-1805	9,13E+03 UFC/ml
	CCUG 20309	4,90E+03 UFC/ml
N/C	ADN genómico: ATCC® BAA-1382DQ™	15 copias/ensayo

Reactividad analítica (inclusividad)

La reactividad del Solana C. difficile Assay se evaluó frente a veintitrés cepas adicionales de *Clostridioides (Clostridium) difficile* representantes de múltiples toxinotipos. Se efectuaron pruebas en tres duplicados de cada cepa añadida a la matriz negativa de materia fecal próxima al nivel de detección del ensayo ($1,83E+04$ UFC/ml, 2 X LOD para ATCC BAA-1805). En este estudio se detectaron las veintitrés cepas adicionales en todos los duplicados con el Solana C. difficile Assay.

Cepa	Toxinotipo
ATCC BAA-1805*	III
CCUG 20309*	X
ATCC BAA-1870	IIIb
CCUG 37770	IV
ATCC BAA-1875	V
ATCC 43598	VIII
ATCC 37774	XXIII
CCUG 9004	Desconocido
ATCC BAA-1874	0
ATCC 43600	0
ATCC BAA-1871	0
ATCC BAA-1803	IIIc
ATCC BAA-1872	0
ATCC 700792	0
ATCC 43599	0
CCUG 60276	Desconocido
CCUG 60275	Desconocido
CCUG 37778	Desconocido
CCUG 37777	Desconocido
CCUG 37776	Desconocido
CCUG 37773	Desconocido
ATCC 17857	0
ATCC 43594	0
ATCC 43596	0
ATCC 43255	0

* Las cepas de C. difficile ATCC BAA-1805 y CCUG 20309 demostraron su inclusividad en el estudio del LOD.

Estudio de reproducibilidad

Para confirmar la reproducibilidad del Solana C. difficile Assay se analizó un panel del estudio aleatorizado y con enmascaramiento que contenía muestras negativas y positivas de *Clostridioides (Clostridium) difficile* preparadas en una matriz negativa de materia fecal en tres (3) centros de ensayo (dos [2] centros clínicos). Cada centro analizó un panel de reproducibilidad así como controles de ensayo durante cinco (5) días por triplicado. Los análisis realizados los realizaron dos operadores de cada centro. Cada operador analizó el panel una vez al día. En conjunto se analizaron 540 muestras (incluidos los controles). En este estudio el Solana C. difficile Assay generó resultados reproducibles.

Centros	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Porcentaje global de concordancia		Intervalo de confianza de 95 %
	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia			
<i>C. difficile</i> Negativo alto ($4,8 \times 10^2$ UFC/ml)	12/30	40 %	19/30	63,3 %	12/30	40 %	43/90	47,8 %	37,8 % - 58,0 %
<i>C. difficile</i> Positivo bajo ($1,7 \times 10^3$ UFC/ml)	30/30	100 %	30/30	100 %	29/30	96,7 %	89/90	98,9 %	94 %-99,8 %
<i>C. difficile</i> Positivo moderado ($3,4 \times 10^3$ UFC/ml)	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 %-100 %
Negativo	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 %-100 %
<i>C. difficile</i> Control positivo	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 %-100 %

Centros	Centro 1		Centro 2		Centro 3		Porcentaje global de concordancia		Intervalo de confianza de 95 %
	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia	N.º de resultados esperados/ N.º analizados	% de concordancia			
Ensayo Control negativo	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	90/90	100 %	95 %-100 %

Especificidad analítica: reactividad cruzada e interferencia microbiana

La especificidad analítica del Solana C. difficile Assay se evaluó mediante el análisis de un panel compuesto por sesenta y ocho (68) bacterias, virus y levaduras y ADN humano que representan los patógenos entéricos comunes, la flora o el ácido nucleico que habitualmente se encuentran en el intestino. Los microorganismos o el ácido nucleico se mezclaron con la matriz combinada negativa y se analizaron directamente o en presencia de 1,83E+04 UFC/ml de *C. difficile* para determinar la reactividad cruzada y la interferencia microbiana, respectivamente.

En la tabla siguiente se enumeran las bacterias, virus y levaduras utilizados en estos estudios. No se observaron signos de reactividad cruzada o de interferencia entre cualquiera de los integrantes del panel y el Solana C. difficile Assay.

Microorganismos	Identificación
<i>Abiotrophia defectiva</i>	ATCC 49176
<i>Acinetobacter baumannii</i>	ATCC 19606
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966
<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i>	ATCC 15554
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 13472
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285
<i>Campylobacter coli</i>	ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> sub sp. <i>jejuni</i>	ATCC 33292
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090
<i>Clostridioides (Clostridium) bif fermentans</i>	ATCC 638
<i>Clostridioides (Clostridium) botulinum</i>	
<i>Clostridioides (Clostridium) butyricum</i>	CCRI-11128
<i>Clostridioides (Clostridium) haemolyticum</i>	ATCC 19398
<i>Clostridioides (Clostridium) novyi</i>	ATCC 19402
<i>Clostridioides (Clostridium) orbiscindens</i>	ATCC 49531
<i>Clostridioides (Clostridium) perfringens</i>	ATCC 13124
<i>Clostridioides (Clostridium) scindens</i>	ATCC 35704
<i>Clostridioides (Clostridium) septicum</i>	ATCC 12464
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	ATCC 9714
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	Z077
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 6329
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 9284
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 33098
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 36938
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 43123
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 47545
<i>Clostridioides (Clostridium) sordellii</i>	CCUG 59819
<i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i> (no toxigénico)	ATCC 43593
<i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i> (no toxigénico)	ATCC 43601
<i>Clostridioides (Clostridium) sporogenes</i>	ATCC 15579
<i>Edwardsiella tarda</i>	ATCC 15947
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
<i>Enterococcus faecalis</i> vanB	ATCC 51299

Microorganismos	Identificación
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 23511
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 700927
<i>Helicobacter pylori</i>	ATCC 43504
<i>Klebsiella oxytoca</i>	ATCC 33497
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	ATCC 4356
<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC BAA-389
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	ATCC 14029
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	ATCC 25260
<i>Prevotella melaninogenica</i>	ATCC 25845
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 25933
<i>Providencia alcalifaciens</i>	ATCC 9886
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 35554
<i>Salmonella choleraesuis</i> (typhimurium)	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>	ATCC 13314
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>	ATCC 7001
<i>Serratia liquefaciens</i>	ATCC 27592
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC 13880
<i>Shigella boydii</i>	ATCC 9207
<i>Shigella dysenteriae</i>	ATCC 11835
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 29930
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990
<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 12973
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
Adenovirus	
Rotavirus	
Norovirus	
Enterovirus	
Ecovirus	
Virus de Coxsackie	
Citomegalovirus	
ADN humano	

Especificidad analítica: sustancias interferentes

El rendimiento del Solana C. difficile Assay se evaluó con sustancias potencialmente interferentes que pueden estar presentes en las muestras fecales. Las sustancias potencialmente interferentes se evaluaron usando dos cepas de *C. difficile* (CCUG n.º 20309 o ATCC BAA n.º 1805) a una concentración de 1,83E+04 UFC/ml. No se observaron signos de interferencia causada por las sustancias analizadas.

Nombre de la sustancia	Principios activos	Concentración analítica
Nistatina	Nistatina	1 % (p/v)
Cortizone 10	Hidrocortisona	1 % (p/v)
Supositorios de glicerina Fleet	Glicerina	1 % (p/v)
Desitin	Óxido de zinc	1 % (p/v)
Anusol Plus	Clorhidrato de pramoxina y sulfato de cinc monohidrato	1 % (p/v)
Preparation H	Fenilefrina	1 % (p/v)
Nistatina	Nistatina	1 % (p/v)
Cortizone 10	Hidrocortisona	1 % (p/v)
Supositorios de glicerina Fleet	Glicerina	1 % (p/v)

Nombre de la sustancia	Principios activos	Concentración analítica
Desitin	Óxido de zinc	1 % (p/v)
Anusol Plus	Clorhidrato de pramoxina y sulfato de cinc monohidrato	1 % (p/v)
Preparation H	Fenilefrina	1 % (p/v)
Tums	Carbonato de calcio	10 % (p/v)
Equate Antacid Max Strength	Hidróxido de aluminio, hidróxido de magnesio	10 % (p/v)
Enema de suspensión rectal Mesalazine	Mesalazina	10 % (p/v)
Enema de aceite mineral Fleet	Aceite mineral	10 % (p/v)
Anticonceptivo vaginal Gynol II	Nonoxinol-9	1 % (p/v)
Imodium AD	Loperamida HCl	10 % (p/v)
Pepto Bismol	Subsalicilato de bismuto	10 % (p/v)
Ex-Lax	Senósidos	1 % (p/v)
Metronidazol	Metronidazol	12,5 mg/ml
Vancomicina	Vancomicina	12,5 mg/ml
Polysporin	Bacitracina y polimixina B	1 % (p/v)
Naproxeno sódico	Naproxeno sódico	12,5 mg/ml
Toallitas limpiadoras para la higiene personal Tucks	Hamamelis	10 % (v/v)
Toallitas de cloruro de benzalconio	Cloruro de benzalconio	10 % (v/v)
Etanol	Etanol	10 % (v/v)
Mucosidad	Inmunoglobulinas, lisozima, polímeros, etc..	3,5 %
Sangre completa	Glucosa, hormonas, enzimas, iones, hierro, etc.	10 %
Ácido palmítico	Ácido palmítico	12,5 mg/ml
Ácido esteárico	Ácido esteárico	12,5 mg/ml
Triglyceride Mix (C2 – C10)	Triglicéridos	10 %

Ninguna de las treinta y dos (32) posibles sustancias interferentes que pueden estar presentes en muestras fecales mostró reacción cruzada o interferencia con el Solana C. difficile Assay.

Contaminación por arrastre y contaminación cruzada

Se realizó un estudio para demostrar que la contaminación por arrastre («carry-over») y cruzada no se producen cuando los usuarios de destino realizan el Solana C. difficile Assay observando las instrucciones del folleto.

Se prepararon dos (2) muestras: muestra positiva de *C. difficile* y muestra negativa de *C. difficile*. La muestra positiva se preparó añadiendo células de una cepa de *C. difficile* (CCUG 20309) de título conocido a la matriz negativa de materia fecal a la concentración de $4,9 \times 10^6$ UFC/ml (aproximadamente 1000 X LOD). La matriz negativa de materia fecal sirvió como la muestra negativa de *C. difficile*. En cada uno de los experimentos se alternaron las muestras positivas con las negativas y se analizaron con el Solana C. difficile Assay para evaluar el riesgo de contaminación cruzada. En su conjunto dos (2) operadores analizaron 50 muestras positivas y 50 muestras negativas en 11 ensayos.

Todas las muestras positivas de *C. difficile* fueron positivas y todas las muestras negativas fueron negativas. No se observaron signos de contaminación por arrastre/cruzada con el Solana C. difficile Assay si se seguían las instrucciones del folleto.

ASISTENCIA TÉCNICA Y AL CLIENTE

Si tiene alguna duda en relación con el uso de este producto, contacte con la asistencia técnica de Quidel en el número 1.800.874.1517 (en los Estados Unidos) o technicalsupport@quidel.com. Si está fuera de los Estados Unidos, puede obtener más información de su distribuidor, o directamente de Quidel, en uno de los números que se indican a continuación. Consulte quidel.com para ver más opciones de asistencia.

País	Teléfono	Dirección de correo electrónico
Europa, Oriente Medio y África	+353 (91) 412 474 (principal) 0 1800 200441 (llamada gratuita)	emeatechnicalsupport@quidel.com
Austria	+43 316 231239	
Francia	0 (805) 371674	
Alemania	+49 (0) 7154 1593912	
Países Bajos	0 800 0224198	
Suiza	0 800 554864	
Reino Unido	0 800 3688248	
Italia	+39 (800) 620 549	
Norteamérica, Asia-Pacífico, Latinoamérica	858.552.1100	technicalsupport@quidel.com
Canadá	437.266.1704 (principal) 888.415.8764 (llamada gratuita)	technicalsupport@quidel.com
China	0400 920 9366 o +86 021 3217 8300	chinatechnicalservice@quidel.com

PROPIEDAD INTELECTUAL

Los compuestos de tintado de este producto se venden bajo licencia de BioSearch Technologies, Inc. y están protegidos por patentes de Estados Unidos y de todo el mundo ya concedidas o solicitadas.

REFERENCIAS

- <https://www.cdc.gov/media/releases/2015/p0225-clostridium-difficile.html>
- Kyne, L., M.B. Hamel, R. Polavaram, and C.P. Kelly, *Health Care Costs and Mortality Associated with Nosocomial Diarrhea Due to Clostridium difficile*. Clin Infect Dis, 2002. 34(3): p.346-353.
- Archibald, L.K., S.N. Banerjee, and W.R. Jarvis, *Secular trends in hospital-acquired Clostridium difficile disease in the United States, 1987-2001*. J Infect Dis, 2004. 189(9): p. 1585-9.
- McDonald, L.C., M. Owings, and D.B. Jernigan, *Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003*. Emerg Infect Dis, 2006. 12(3): p. 409-15.
- Voth, D.E. and J.D. Ballard, *Clostridium difficile toxins: mechanism of action and role in disease*. Clin Microbiol Rev, 2005. 18(2): p. 247-63.
- Drudy, D., S. Fanning, and L. Kyne, *Toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile*. Int J Infect Dis, 2007. 11(1): p. 5-10.
- Cohen, S.H., Y.J. Tang, and J. Silva, Jr., *Analysis of the pathogenicity locus in Clostridium difficile strains*. J Infect Dis, 2000. 181(2): p. 659-63.



M307 - Solana C. difficile Assay - Kit de 48 pruebas



MDSS GmBH
Schiffgraben 41
30175 Hannover
Alemania



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PIM307005ES00 (07/20)

GLOSARIO

REF

Número del catálogo



Marca CE de conformidad

EC REP

Representante autorizado
en la Comunidad Europea

LOT

Código de lote



Fecha de caducidad



Fabricante



Limites de temperatura



Indicaciones

Rx ONLY

Uso bajo receta solamente



Consulte etiquetado electrónico para
instrucciones de uso

IVD

Para diagnósticos *in vitro*



Contiene una cantidad suficiente para
48 determinaciones

CONT

Contenido / Contiene
