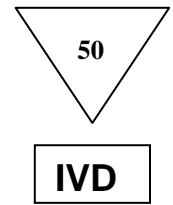




# REF M41 MICROGEN™ C. DIFFICILE



## INTENDED USE

Microgen™ C. difficile is a rapid latex agglutination test intended for confirmatory identification of *Clostridium difficile* cultured on selective solid media from faecal samples from patients with suspected pseudomembranous colitis, antibiotic-associated diarrhoea and post-operative diarrhoea. The kit is intended for professional laboratory use only.

## PRINCIPLE OF THE TEST

Latex particles are coated with rabbit IgG antibodies specific for *C. difficile* cell wall antigens. When the sensitised latex particles are mixed with a suspension of *C. difficile* colonies, a sensitive and specific immunochemical reaction takes place causing the finely dispersed latex particles to agglutinate rapidly into aggregates that are easily visible to the unaided eye.

CONT	KIT PRESENTATION
------	------------------

REAG	TEST	M41a Test Latex Reagent:	2.5mL
------	------	--------------------------	-------

Latex particles coated with rabbit antibodies to *C. difficile* antigens. Preserved with 0.099% sodium azide. (Blue cap)

CONTROL	+	M41b Positive Control:	0.5mL
---------	---	------------------------	-------

Suspension of inactivated *C. difficile* antigens reactive with Test Latex Reagent. Preserved with 0.099% sodium azide. (Black cap)

NaCl	0.85%	M40 0.85% Isotonic Saline:	5mL
------	-------	----------------------------	-----

Preserved with 0.099% sodium azide. (White cap)

Instructions for Use  
Disposable agglutination slides  
Disposable mixing sticks

## Additional Requirements:

- Bacteriological loops
- *C. difficile* selective agar plates (CCFA or CCEY)

## WARNINGS AND PRECAUTIONS

### Safety:

1. The reagents supplied in this kit are for *in vitro* diagnostic use only
2. Sodium azide, which is used as a preservative in the kit reagents can react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. Dispose by flushing with a large volume of water to prevent azide build-up.
3. Appropriate precautions should be taken when handling or disposing of potential pathogens. Decontamination of infectious material can be achieved with sodium hypochlorite at a final concentration of 3% for 30 minutes. Liquid waste containing acid must be neutralised before treatment.

4. The positive control has been inactivated during the manufacturing process. However, it should be handled as though potentially infectious.

## Procedural:

1. Microgen™ C. difficile should be used according to the kit instructions.
2. Allow all reagents to reach room temperature before use.
3. Do not dilute any of the kit reagents
4. Do not intermix reagents from different batches of kits.
5. Do not freeze any of the kit reagents
6. Do not allow the latex reagent dropper to touch the positive control or bacterial samples.
7. Ensure the agglutination slide is clean and dry prior to use.
8. The kit should not be used if the latex reagent fails to agglutinate with the positive control, or if the latex reagent agglutinates in isotonic saline only. Replace with a new kit.

## STORAGE AND SHELF LIFE

Microgen™ C. difficile should be stored at 2-8°C when not in use. The kit should not be used after the expiry date printed on the carton label.

## SPECIMENS

Faecal samples should be cultured in enrichment broth at 37°C for 18-24 hours, then sub-cultured on to selective agar plates (CCFA or CCEY). Plates should be incubated anaerobically at 37°C for 24-48 hours.

Colonies with morphology resembling *C. difficile* are removed for testing with Microgen™ C. difficile (see below)

## PROCEDURE

### Quality Control:

The following checks should be performed each time the kit is used to confirm that the reagents are functioning correctly:

1. **Reagent Control**  
Add 1 drop of Microgen™ C. difficile Latex Reagent to 1 drop of isotonic saline in the same circle on an agglutination slide. Mix with a mixing stick and observe for agglutination. No agglutination should be seen. If this control shows agglutination, at least one of the reagents is contaminated and they should be discarded.
2. **Positive Control**  
Gently mix the Positive Control by inverting several times. Place 1 drop on a circle of an agglutination slide. Add 1 drop of Microgen™ C. difficile Latex Reagent to the same circle and mix. Agglutination should be visible within 2 minutes. If no agglutination is seen the reagents should be discarded.

### Test Procedure:

1. Dispense 1 drop of isotonic saline on to 1 circle of a clean, dry Microgen™ agglutination slide.
2. Using an inoculating loop, remove a suspected *C. difficile* colony from the selective agar plate. Only select colonies whose morphology resembles that of *C. difficile*. Emulsify the colony in the drop of saline on the test card to produce a heavy, smooth suspension.

- Observe the suspension for any agglutination or clumping which would indicate auto-agglutination. If the suspension remains smooth, proceed to the next step. **If auto-agglutination is seen, the organism cannot be tested using Microgen™ C. difficile. Alternative test methods should be used.**
- Gently mix the Test Latex Reagent by inverting the vial several times. Add 1 drop to the colony suspension on the slide. **Do not allow the dropper to touch the organism suspension.**
- Mix the latex reagent and organism suspension together with a clean mixing stick for 30 seconds. Continue mixing by rocking the slide.
- Examine for agglutination after 2 minutes from initial mixing of latex and sample.
- After reading, discard the used slides and mixing sticks into suitable disinfectant.

## INTERPRETATION

Agglutination within 2 minutes is a positive result and indicates the presence of *C. difficile*.

No agglutination within 2 minutes is a negative result.

## LIMITATIONS OF USE

- Results should be interpreted by the clinician in the context of all available clinical and laboratory information. The isolation of *C. difficile* does not constitute a diagnosis of pseudomembranous colitis or antibiotic-associated diarrhoea.
- Identification of *C. difficile* using Microgen™ should be performed on selective cultures as this increases the isolation rate.
- Other *Clostridium spp* may occasionally grow on CCFA selective agar. However, they can be distinguished from *C. difficile* by culture on CCEY agar. Some will not grow on this medium whilst others do not display the characteristics of *C. difficile*.
- Culture-derived suspensions which auto-agglutinate cannot be tested by Microgen™ *C. difficile*. Alternative methods should be used.

## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Microgen™ *C. difficile* has been evaluated as a culture confirmation test at both an independent UK microbiology laboratory and in-house. In total, 137 bacterial isolates were cultured on selective agar plates and colonies tested by Microgen™ *C. difficile* and a well-established commercially available test.

		Microgen™ <i>C. difficile</i>		
		+ve	-ve	Total
Commercial test	+ve	85*	0	85
	-ve	0	52**	52
Total		85	52	137

Sensitivity: 85/85 = 100%  
 Specificity: 52/52 = 100%  
 Diagnostic Efficiency: 137/137 = 100%

\*Of the 85 isolates in this group, 18 were cross-reactants in both tests. However, 16 of these either will not grow on *C. difficile* selective medium or the colonies do not resemble *C. difficile*. The remaining two isolates (both *C. glycolicum*) will grow slightly but do not exhibit colony fluorescence which is a characteristic of the majority of *C. difficile* strains.

\*\* 2 of these isolates were classified as *C. difficile* (serogroups A9, A10). One of these (serogroup A10) exhibited slightly irregular colony morphology. The remaining 50 isolates comprised a wide variety of bacterial species including 5 *Clostridium spp*. Most of these isolates either do not grow on *C. difficile* selective agar or exhibit atypical colony morphology.

Overall, the results obtained with Microgen™ *C. difficile* correlate closely with those obtained using the established commercial product. Although a number of organisms have the potential to cause false

positive reactions in both tests, they either do not grow in *C. difficile* selective culture media or their colony morphologies are not typical of *C. difficile*.

## REPRODUCIBILITY

**Intra-batch reproducibility** was established by testing one batch of product on three separate occasions using a different operator for each occasion. Sensitivity was tested using serial dilutions of reference and kit control antigens and specificity was confirmed using a QC organism panel. No substantial differences were seen between the results obtained by the three operators.

**Inter-batch reproducibility** was examined by testing the sensitivity and specificity of three batches of product using reference and kit control antigens and the QC organism panel. No differences in sensitivity or specificity were seen between the three batches of product.

D

## ZWECKBESTIMMUNG

Microgen™ *C. difficile* ist ein schneller Latexagglutinationstest, der zur bestätigenden Identifikation von *Clostridium difficile*-Erregern bestimmt ist, die auf ausgewählten festen Medien mit Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf pseudomembranöse Kolitis, Antibiotika-assoziierte Diarrhö und postoperative Diarrhö kultiviert worden sind. Das Kit sollte nur von Fachpersonal zu Laborzwecken verwendet werden.

## TESTPRINZIP

Latexpartikel sind mit Kaninchen-IgG-Antikörpern beschichtet, die für *C. difficile*-Zellwandantigene spezifisch sind. Wenn die sensibilisierten Latexpartikel mit einer Lösung aus *C. difficile*-Kolonien gemischt werden, findet eine sensitive und spezifische Immunreaktion statt, die dazu führt, dass die fein verteilten Latexpartikel schnell in Aggregate agglutinieren, die mit dem bloßen Auge leicht zu erkennen sind.

CONT

## INHALT DES KITS

REAG

TEST

M41a Test-Latexreagenz: 2,5 ml

Latexpartikel behandelt mit Kaninchen-Antikörpern gegen *C. difficile* - Antigene. Konserviert mit 0,099 % Natriumazid. (**Blauer** Verschluss)

CONTROL

+

M41b Positivkontrolle: 0,5ml

Suspension inaktivierter *C. difficile*-Antigene, die mit Test-Latexreagenz reagieren. Konserviert mit 0,099 % Natriumazid. (**Schwarzer** Verschluss)

NaCl

0.85%

5ml

M40 0,85 % isotonische Kochsalzlösung:

Konserviert mit 0,099 % Natriumazid. (**Weißer** Verschluss)

Gebrauchsanweisung  
 Einwegobjektträger für die Agglutination  
 Einwegrührstäbchen

## Zusätzlich werden benötigt:

- Bakterienösen
- C. difficile*-selektive Agarplatten (CCFA oder CCEY)

## WARNHINWEISE UND SICHERHEITSVORKEHRUNGEN

### Sicherheit:

- Die Reagenzien in diesem Kit sind nur für die *In-vitro*-Diagnostik gedacht.
- Natriumazid, das als Konservierungsmittel für die Reagenzien verwendet wird, kann mit in Abflussinstallationen vorhandenem

- Blei oder Kupfer reagieren und zur Anreicherung von explosiven Metallaziden führen. Bei Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um eine Anreicherung des Azids zu vermeiden.
- Beim Umgang oder der Beseitigung von potenziellen Pathogenen sollten entsprechende Sicherheitsvorkehrungen getroffen werden. Die Dekontamination infektiösen Materials kann mit Natriumhypochlorit bei einer Endkonzentration von 3 % über 30 Minuten erfolgen. Flüssige Abfallstoffe, die Säuren enthalten, müssen vor der Behandlung neutralisiert werden.
  - Die Positivkontrolle wurde während des Herstellungsprozesses inaktiviert. Trotzdem sollte dieses Produkt als potenziell infektiös behandelt werden.

#### Anwendung:

- Microgen™ *C. difficile* sollte gemäß der Gebrauchsanweisung benutzt werden.
- Alle Reagenzien sollten vor der Verwendung Raumtemperatur haben.
- Keines der Reagenzien im Kit darf verdünnt werden.
- Reagenzien verschiedener Chargen dürfen nicht miteinander vermischt werden.
- Keines der Reagenzien im Kit darf eingefroren werden.
- Die Latexreagenzflasche sollte nicht mit der Positivkontrolle oder den Bakterienproben in Berührung kommen.
- Vergewissern Sie sich, dass der Objektträger vor der Verwendung sauber und trocken ist.
- Das Kit sollte nicht verwendet werden, wenn das Latexreagenz nicht mit der Positivkontrolle agglutiniert, oder wenn das Latexreagenz nur in isotoner Kochsalzlösung agglutiniert. Durch ein neues Kit ersetzen.

#### AUFBEWAHRUNG UND HALTBARKEIT

Microgen™ *C. difficile* sollte bei Nichtverwendung bei 2-8°C gelagert werden. Das Kit darf nach dem Verfallsdatum auf dem Verpackungsetikett nicht mehr benutzt werden.

#### PROBEN

Stuhlproben sollten in Anreicherungsbouillon bei 37°C 18-24 Stunden kultiviert werden, und dann auf den selektiven Agarplatten subkultiviert werden (CCFA oder CCEY). Die Platten müssen anaerob 24 Stunden lang bei 37°C inkubiert werden. Kolonien mit einer *C. difficile*-ähnlichen Morphologie werden zum Testen mit Microgen™ *C. difficile* entfernt (siehe unten).

#### VERFAHREN

##### Qualitätskontrolle:

Die folgenden Prüfungen müssen jedes Mal, wenn das Kit verwendet wird, durchgeführt werden, um zu bestätigen, dass die Reagenzien richtig wirken:

- Reagenzienkontrolle:**  
Einen Tropfen Microgen™ *C. difficile* Latexreagenz zu einem Tropfen der isotonen Kochsalzlösung in dieselbe Vertiefung auf dem Objektträger geben. Mit einem Rührstäbchen mischen und auf Agglutination achten. Es sollte keine Agglutination zu sehen sein. Wenn diese Kontrolle Agglutination aufweist, ist mindestens eines der Reagenzien kontaminiert und alle Reagenzien sollten entsorgt werden.
- Positivkontrolle**  
Die Positivkontrolle durch mehrmaliges Schütteln vorsichtig mischen. Einen Tropfen auf eine Vertiefung auf dem Agglutinationsträger geben. Einen Tropfen von Microgen™ *C. difficile* Latexreagenz in dieselbe Vertiefung geben und vermischen. Agglutination sollte innerhalb von 2 Minuten auftreten. Falls keine Agglutination sichtbar wird, sollten die Reagenzien entsorgt werden.

##### Testverfahren:

- 1 Tropfen der isotonen Kochsalzlösung in 1 Vertiefung eines sauberen, trockenen Microgen™ Agglutinationsobjektträgers geben.

- Mit einer Impföse eine vermutete *C. difficile*-Kolonie aus der selektiven Agarplatte entnehmen. Nur Kolonien mit *C. difficile*-ähnlicher Morphologie auswählen. Die Kolonie in dem Tropfen der Kochsalzlösung auf der Testkarte emulgieren, um eine dickflüssige, glatte Suspension zu erzeugen.
- Die Suspension auf Agglutination oder Verklumpen beobachten, was auf eine Autoagglutination deutet. Wenn die Suspension glatt bleibt, zum nächsten Schritt übergehen. **Wenn Autoagglutination beobachtet wird, kann der Organismus nicht mit Microgen™ *C. difficile* untersucht werden. Es sollten alternative Testmethoden verwendet werden.**
- Das Test-Latexreagenz durch mehrmaliges Schütteln des Fläschchens vorsichtig mischen. Einen Tropfen zu Koloniesuspension auf dem Träger geben. **Die Tropfenflasche darf nicht mit der Organismussuspension in Berührung kommen.**
- Das Latexreagenz und die Organismussuspension mit einem sauberen Rührstäbchen 30 Sekunden lang mischen. Das Mischen durch Schwenken des Trägers fortsetzen.
- 2 Minuten nach Beginn des anfänglichen Mischens von Latexreagenz und Probe auf Agglutination untersuchen.
- Nach dem Ablesen die benutzten Rührstäbchen und Objektträger in geeigneter Desinfektionslösung entsorgen.

#### INTERPRETATION

Eine Agglutination innerhalb von 2 Minuten entspricht einem positiven Ergebnis und deutet auf die Anwesenheit von *C. difficile* hin. Keine Agglutination innerhalb von 2 Minuten ist ein negatives Ergebnis.

#### ANWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Die Ergebnisse sollten durch den Arzt immer im Kontext aller vorhandenen klinischen und Laborparameter interpretiert werden. Die Isolierung von *C. difficile* stellt keine Diagnose einer pseudomembranösen Kolitis oder einer Antibiotika-assoziierten Diarrhö dar.
- Die Identifikation von *C. difficile* mithilfe von Microgen™ sollte auf selektiven Kulturen durchgeführt werden, da dies die Isolierungsrate erhöht.
- Gelegentlich können andere *Clostridium spp* auf CCFA-selektivem Agar wachsen. Sie können jedoch durch Kultivierung auf CCEY-Agar von *C. difficile* unterschieden werden. Einige werden auf diesem Medium nicht wachsen, während andere nicht die Eigenschaften von *C. difficile* zeigen.
- Kulturabgeleitete Suspensionen mit Autoagglutination können nicht mit Microgen™ *C. difficile* untersucht werden. Es sollten alternative Testmethoden verwendet werden.

#### LEISTUNGSDATEN

Microgen™ *C. difficile* ist als Kulturbestätigungstest in sowohl einem unabhängigen Mikrobiologielabor in Großbritannien als auch intern bewertet worden. Insgesamt wurden 137 Bakterienisolate auf selektiven Agarplatten kultiviert und die Kolonien mit Microgen™ *C. difficile* und einem bewährten kommerziell erhältlichen Test untersucht.

		Microgen™ <i>C. difficile</i>		Gesamt
		Pos	Neg	
Kommerzieller Test	Pos	85*	0	85
	Neg	0	52**	52
Gesamt		85	52	137

Sensitivität: 85/85 = 100%  
Spezifität: 52/52 = 100%  
Diagnostische Effizienz: 137/137 = 100%

\* Von den 85 Isolaten dieser Gruppe haben 18 in beiden Tests kreuzreagiert. 16 dieser Isolate wachsen jedoch entweder nicht auf *C. difficile*-selektivem Medium oder die Kolonien ähneln *C. difficile* nicht. Die restlichen beiden Isolate (beide *C. glycolicum*) wachsen

beide leicht, zeigen jedoch keine Koloniefuoreszenz, was eine Eigenschaft der Mehrheit der *C. difficile*-Stämme ist.

\*\* 2 dieser Isolate wurden als *C. difficile* klassifiziert (Serogruppen A9, A10). Eine davon (Serogruppe A10) zeigte eine leicht unregelmäßige Koloniemorphologie. Die restlichen 50 Isolate umfassten eine breite Auswahl bakterieller Spezies einschließlich 5 *Clostridium spp.* Die meisten dieser Isolate wuchsen entweder nicht auf *C. difficile*-selektivem Agar oder zeigen eine atypischen Koloniemorphologie.

Insgesamt korrelieren die mit Microgen™ *C. difficile* erzielten Ergebnisse eng mit den mit dem bewährten kommerziellen Produkt erhaltenen Ergebnissen. Obgleich eine Reihe von Organismen das Potenzial besitzen, eine falsch-positive Reaktion in beiden Tests zu erzeugen, wachsen sie entweder nicht auf *C. difficile*-selektiven Kulturmedien oder ihre Koloniemorphologien sind für *C. difficile* nicht typisch.

## REPRODUZIERBARKEIT

**Die Intrachargenreproduzierbarkeit** wurde durch Testen einer Produktcharge in drei separaten Durchgängen mit unterschiedlichem Bedienpersonal untersucht. Die Sensitivität wurde mit Verdünnungsreihen von Referenz- und Kit-Kontrollantigenen getestet, und die Spezifität wurde mit einer QK-Organismengruppe bestätigt. Es wurden keine wesentlichen Unterschiede zwischen den von den drei Bedienpersonen erzielten Ergebnissen festgestellt.

**Die Interchargenreproduzierbarkeit** wurde durch Testen der Sensitivität und der Spezifität von 3 Produktchargen unter Verwendung von Referenz- und Kit-Kontrollantigenen und der QK-Organismengruppe untersucht. Es wurden keine Unterschiede in Sensitivität oder Spezifität zwischen den drei Produktchargen festgestellt.

E

## INDICACIONES DE USO

Microgen™ *C. difficile* es una prueba rápida de aglutinación en látex, indicada para la identificación confirmatoria de *Clostridium difficile* cultivado en medios sólidos selectivos de muestras fecales de pacientes en los que se sospecha colitis pseudomembranosa, diarrea asociada a los antibióticos o diarrea postoperatoria. El kit está indicado únicamente para uso en laboratorios profesionales.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Las partículas de látex están recubiertas con anticuerpos IgG de conejo específicos para los antígenos de la pared celular de *C. difficile*.

Cuando las partículas de látex sensibilizadas se mezclan con una suspensión de colonias de *C. difficile*, se produce una reacción inmunoquímica sensible y específica, que hace que las partículas de látex finamente dispersas se aglutinen rápidamente en agregados que son fácilmente visibles a simple vista.

CONT

### PRESENTACIÓN DEL KIT

REAG TEST

M41a Reactivo de látex de prueba: 2,5 ml

Las partículas de látex están recubiertas con anticuerpos dirigidos contra los antígenos de *C. difficile*. Conservado con azida sódica al 0,099%. (Tapón **azul**)

CONTROL +

M41b Control positivo: 0,5 ml

Suspensión de antígenos de *C. difficile* inactivados, reactivos con el Reactivo de Látex de Prueba Conservado con azida sódica al 0,099%. (Tapón **negro**)

NaCl 0.85%

M40 Solución salina isotónica al 0,85%: 5 ml

Conservado con azida sódica al 0,099%. (Tapón **blanco**)

Instrucciones de uso  
Láminas de aglutinación desechables  
Varillas para mezclar desechables

## Requisitos adicionales:

- Asas bacteriológicas
- Placas de agar selectivas para *C. difficile* (CCFA o CCEY)

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

### Seguridad:

1. Los reactivos suministrados en este kit son sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. La azida sódica, que se emplea como conservante en los reactivos del kit, puede reaccionar con las cañerías de plomo o cobre, para formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Elimine aclarando con un gran volumen de agua, para evitar la acumulación de azidas.
3. Al manipular o eliminar elementos potencialmente patógenos se deberán tomar precauciones especiales. La descontaminación del material infeccioso se puede obtener con hipoclorito de sodio a una concentración final del 3% durante 30 minutos. Los desechos líquidos que contienen ácido se deben neutralizar antes del tratamiento.
4. El control positivo se ha inactivado durante el proceso de fabricación. Sin embargo, se deberá manipular como si fuera potencialmente infeccioso.

### Procedimiento:

1. Microgen™ *C. difficile* se deberá utilizar según las instrucciones del kit.
2. Espere que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de su uso.
3. No diluya ninguno de los reactivos del kit.
4. No mezcle entre sí los reactivos de diferentes lotes del kit.
5. No congele ninguno de los reactivos del kit.
6. No deje que el gotero del reactivo de látex toque el control positivo ni las muestras bacterianas.
7. Asegúrese de que la lámina de aglutinación esté limpia y seca antes de su uso.
8. El kit no se deberá usar si el reactivo de látex no se aglutina con el control positivo o si el reactivo de látex se aglutina sólo en solución salina isotónica. Reemplácelo por un kit nuevo.

## ALMACENAMIENTO Y PERÍODO DE VALIDEZ

Microgen™ *C. difficile* se deberá almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C cuando no se utilice. El kit no se deberá usar después de la fecha de caducidad impresa en la etiqueta de la caja.

## MUESTRAS

Las muestras fecales se deberán cultivar en caldo enriquecido a 37 °C durante 18 a 24 horas; a continuación, se subcultivan en placas de agar selectivo (CCFA o CCEY). Las placas se deberán incubar en condiciones anaerobias a 37 °C y durante 24 a 48 horas. Las colonias con morfología similar a la de *C. difficile* se eliminan para analizar con Microgen™ *C. difficile* (vea más adelante).

## PROCEDIMIENTO

### Control de calidad:

Cada vez que se utilice el kit, se deberán hacer las siguientes comprobaciones, para confirmar que los reactivos funcionan correctamente:

#### 1. Control de reactivo

Añada una gota de Reactivo de Látex Microgen™ *C. difficile* a una gota de solución salina isotónica en el mismo círculo, en la lámina de aglutinación.

Mezcle con una varilla para mezclar y observe la presencia de aglutinación. No se deberá observar aglutinación. Si este control muestra aglutinación, por lo menos uno de los reactivos está contaminado y deberá ser desechado.

2. **Control positivo**  
Mezcle con cuidado el Control Positivo, invirtiéndolo varias veces. Coloque una gota en un círculo de una lámina de aglutinación. Añada una gota de Reactivo de Látex Microgen™ C. difficile en el mismo círculo, y mezcle. La aglutinación se deberá hacer visible en un lapso de dos minutos. Si no se observa aglutinación, los reactivos deben ser desechados.

Sensibilidad: 85/85 = 100%  
Especificidad: 52/52 = 100%  
Eficacia diagnóstica: 137/137 = 100%

\*De los 85 aislados de este grupo, 18 fueron reacciones cruzadas en ambas pruebas. Sin embargo, 16 de éstos no crecerán en medio selectivo para *C. difficile* o las colonias no se asemejan a las de *C. difficile*. Los dos aislados restantes (ambos *C. glycolicum*) crecerán ligeramente, pero no presentan fluorescencia de colonia, que es una característica de la mayoría de las cepas de *C. difficile*.

#### Procedimiento de la prueba:

1. Coloque una gota de solución salina isotónica en un círculo de una lámina de aglutinación Microgen™ limpia y seca.
2. Con un asa de inoculación, elimine una colonia de *C. difficile* sospechosa de la placa de agar selectivo. Seleccione únicamente las colonias con morfología similar a la de *C. difficile*. Emulsifique la colonia en la gota de solución salina de la tarjeta de prueba, para producir una suspensión pesada y lisa.
3. Observe la presencia de aglutinación o grumos en la suspensión, lo que indicaría una autoaglutinación. Si la suspensión se mantiene lisa, proceda al siguiente paso. **Si no se observa autoaglutinación, el microorganismo no puede ser analizado con Microgen™ C. difficile.**
4. **Se deberá usar otro método de análisis.**
5. Mezcle con cuidado Reactivo de Látex de Prueba, invirtiéndolo varias veces. Añada una gota a la suspensión de colonia de la lámina. **No deje que el gotero toque la suspensión del microorganismo.**
6. Mezcle el reactivo de látex con la suspensión de microorganismo, con una varilla para mezclar limpia, durante 30 segundos. Continúe mezclando, balanceando la lámina.
7. Examine la presencia de aglutinación después de dos minutos de la mezcla inicial de látex con la muestra.
8. Después de la lectura, deseche las láminas usadas y las varillas para mezclar, con un desinfectante adecuado.

\*\* Dos de estos aislados fueron clasificados como *C. difficile* (serogrupos A9, A10). Uno de éstos (serogrupo A10) presentó una morfología de colonia ligeramente irregular. Los 50 aislados restantes comprendieron una gran variedad de especies bacterianas incluidas cinco especies de *Clostridium*. La mayoría de estos aislados no crecen en agar selectivo para *C. difficile* o presentan unas colonias de morfología atípica.

En total, los resultados obtenidos con Microgen™ C. difficile se correlacionan estrechamente con los obtenidos con el producto comercial establecido. Aunque es posible que algunos microorganismos causen reacciones positivas falsas con ambas pruebas, no crecen en medio de cultivo selectivo para *C. difficile* o sus colonias tienen morfologías que no son las típicas de las de *C. difficile*.

#### REPRODUCIBILIDAD

**La reproducibilidad intralote** se estableció analizando un lote de producto en tres ocasiones distintas, con un técnico diferente en cada ocasión. La sensibilidad se analizó con diluciones seriadas de antígenos de referencia y de control del kit, y la especificidad se confirmó con un panel de microorganismo de control de calidad. No se observó ninguna diferencia considerable entre los resultados obtenidos por los tres operadores.

**La reproducibilidad entre lotes** se evaluó mediante el examen de la sensibilidad y la especificidad de tres lotes de producto, utilizando los antígenos de referencia y de control del kit, y con un panel de microorganismo de control de calidad. No se observó ninguna diferencia en cuanto a la sensibilidad o la especificidad entre los tres lotes de producto.

#### INTERPRETACIÓN

La aglutinación al cabo de dos minutos se considera un resultado positivo e indica la presencia de *C. difficile*.

La ausencia de aglutinación al cabo de dos minutos se considera un resultado negativo.

#### LIMITACIONES DE USO

1. Los resultados deberán ser interpretados por el clínico en el contexto de toda la información clínica y de laboratorio. El aislamiento de *C. difficile* no constituye un diagnóstico de colitis pseudomembranosa ni de diarrea asociada a antibióticos.
2. La identificación de *C. difficile* con el uso de Microgen™ se deberá realizar en cultivos selectivos, puesto que ello aumenta la tasa de aislamiento.
3. En ocasiones, otras especies de *Clostridium* pueden crecer en agar selectivo CCFA. Sin embargo, éstas se pueden distinguir de *C. difficile* mediante el cultivo en agar CCEY. Algunos no crecerán en este medio, mientras que otros no mostrarán las características de *C. difficile*.
4. Las suspensiones derivadas de cultivos que se autoaglutinan no se pueden analizar con Microgen™ C. difficile. Se deberá usar otro método de análisis.

#### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se ha evaluado Microgen™ C. difficile como prueba de confirmación de cultivo, tanto en un laboratorio de microbiología independiente del Reino Unido, como internamente. En total, se cultivaron 137 aislados bacterianos en placas de agar selectivo y las colonias se analizaron mediante Microgen™ C. difficile y una prueba comercial bien establecida.



Microgen Bioproducts Ltd  
1, Admiralty way  
Camberley  
Surrey, GU15 3DT, UK

WF2600/2006/01

		Microgen™ C. difficile		Total
		Positivas	Negativas	
Prueba comercial	+ve	85*	0	85
	-ve	0	52**	52
Total		85	52	137