



Rx Only

cobas[®] Cdiff

Prueba de ácidos nucleicos para uso en el cobas[®] Liat[®] System

Para diagnóstico *in vitro*

**cobas[®] Cdiff Nucleic acid test for use
on the cobas[®] Liat[®] System**

20 Tests

P/N: 07454945190

**cobas[®] Cdiff Positive and Negative Control Kit
for use on the cobas[®] Liat[®] System**

5 Sets

P/N: 07454970190

TABLA DE CONTENIDO

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba.....	4
Antecedentes: detección de <i>C. difficile</i>	4
Explicación de la prueba.....	5
Principios del procedimiento	5
Preparación de las muestras.....	5
Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan®	5
Amplificación selectiva.....	5
Reactivos y materiales.....	6
Reactivos y controles de cobas® Cdiff.....	6
Almacenamiento y manipulación de los reactivos	8
Material adicional necesario	8
Material opcional.....	9
Equipos y programas necesarios pero no suministrados.....	9
Precauciones y requisitos de manipulación	9
Advertencias y precauciones.....	9
Buenas prácticas de laboratorio.....	10
Contaminación	10
Integridad	10
Eliminación de residuos	11
Limpieza de derrames.....	11
Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras.....	11
Obtención de las muestras	11
Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte.....	11
Procedimiento analítico	12
Flujo de trabajo para añadir lotes.....	12
Flujo de trabajo para la transferencia de muestras	12
Flujo de trabajo de cobas® Cdiff	12
Instrucciones de uso.....	13
Procedimiento para añadir lotes	13
Transferencia de muestras a cobas® PCR Media	15
Realización de cobas® Cdiff con muestras clínicas	15
Realización de procesos de control adicionales	16

Resultados.....	17
Control de calidad y validez de los resultados.....	17
Control positivo.....	17
Control negativo.....	17
Control interno.....	17
Interpretación de los resultados.....	18
Procedimiento sugerido para la repetición de pruebas.....	19
Limitaciones del procedimiento.....	19
Características de rendimiento no clínicas.....	20
Sensibilidad analítica.....	20
Detección de genotipos de <i>C. difficile</i>	20
Precisión.....	22
Especificidad analítica.....	23
Interferencia.....	25
Correlación.....	27
Correlación de cobas® Cdiff con cultivo.....	27
Correlación de cobas® Cdiff y la prueba NAT comparativa.....	28
Tasa de resultados no válidos.....	28
Códigos de error.....	29
Información adicional.....	30
Características principales de la prueba.....	30
Símbolos.....	31
Asistencia técnica.....	32
Fabricante e importador.....	32
Marcas registradas y patentes.....	32
Copyright.....	32
Bibliografía.....	33
Revisión del documento.....	35

Uso previsto

La prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System es una prueba cualitativa automatizada de diagnóstico *in vitro* que utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección del gen de la toxina B (*tcdB*) de *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) toxigénico en muestras de heces amorfas (líquidas o blandas) obtenidas de pacientes sospechosos de padecer una infección por *C. difficile* (CDI). La prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System se ha diseñado como ayuda para el diagnóstico de CDI en humanos en combinación con factores de riesgo clínicos y epidemiológicos.

Resumen y explicación de la prueba

Antecedentes: detección de *C. difficile*

Clostridioides difficile (*C. difficile*) es un bacilo gram positivo anaerobio formador de esporas que fue identificado como agente etiológico de la diarrea relacionada con el tratamiento con antibióticos y de la colitis pseudomembranosa a finales de la década de los setenta.^{1,2} *C. difficile* es el patógeno nosocomial más frecuente³ y se estima que es responsable del 15-20 % de los casos de diarrea relacionados con el tratamiento con antibióticos y de prácticamente todos los casos de colitis pseudomembranosa asociada al uso de antibióticos.⁴ La incidencia de la infección por *C. difficile* (CDI) se ha cuadruplicado en menos de dos décadas⁵ y se asocia a enfermedades graves y mortalidad³. En parte, este aumento de la incidencia se ha atribuido a la emergencia de cepas hipervirulentas como el ribotipo 027/pulsotipo norteamericano 1 (NAP1) del grupo BI. Los pacientes ancianos y hospitalizados que han tomado antibióticos recientemente constituyen la población de riesgo para las infecciones por CDI, aunque la frecuencia de la CDI también está aumentando fuera del entorno hospitalario.^{3,6}

Las infecciones se transmiten mediante esporas y tras la colonización con *C. difficile* toxigénico, una persona puede convertirse en portador asintomático o desarrollar una enfermedad de colon. Los síntomas clínicos de la CDI pueden variar desde diarrea moderada hasta colitis pseudomembranosa mortal caracterizada por dolor abdominal, diarrea profusa y síntomas sistémicos como fiebre, anorexia, náuseas y malestar. A pesar del drástico aumento de la incidencia y la gravedad de la CDI, el metronidazol o la vancomicina siguen siendo el tratamiento médico preferido para episodios agudos e infecciones recurrentes.⁷

El diagnóstico de la CDI suele determinarse a partir de la presencia de toxinas en muestras de heces. La mayoría de las cepas toxigénicas de *C. difficile* suelen producir dos exotoxinas proteicas: toxina A y toxina B.⁸ Un porcentaje reducido de cepas toxigénicas puede producir únicamente la toxina B.⁹ La manifestación del efecto citopático en una monocapa celular por acción de la toxina B se ha considerado tradicionalmente como la “regla de oro” para el diagnóstico.^{10,11} El sobrenadante fecal puede incubarse directamente sobre la monocapa celular; del mismo modo, los aislados de *C. difficile* fecal pueden cultivarse en cultivo enriquecido antes de incubar el sobrenadante en la monocapa celular (cultivo toxigénico). Ambas técnicas requieren un mínimo de 48 a 72 horas para obtener un resultado final de la prueba.

El cultivo de heces no es un método que se realice ampliamente dada la complejidad del procedimiento y el mayor tiempo necesario hasta la obtención del resultado como se describe más arriba, por lo que el diagnóstico suele realizarse con inmunoensayos enzimáticos (EIA) o pruebas basadas en ADN.^{3,12} El uso de los inmunoensayos para la detección de toxinas está ampliamente extendido porque permiten obtener resultados positivos en menos de 4 horas, aunque su sensibilidad es inferior a la de la técnica del cultivo.^{12,13} En cambio, la detección de genes de toxinas de *C. difficile* mediante PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ofrece una mayor sensibilidad y un menor tiempo de resultado que los cultivos y los inmunoensayos.^{3,14-17}

Entre las medidas de control de la infección figuran el uso prudente de los antimicrobianos, la prevención de infecciones cruzadas y la vigilancia activa de los casos.¹⁸ Por todo lo expuesto, existe una necesidad acuciante de un método de detección automatizado altamente sensible y rápido del *C. difficile*. Los métodos moleculares ofrecen el potencial de reducir de forma significativa el tiempo de detección. Esta ventaja permite el inicio temprano de un tratamiento antimicrobiano y la implementación inmediata de medidas de control de la infección.¹⁴⁻¹⁶ La prueba de ácidos nucleicos 07968485190-05ES

cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System se ha diseñado como una prueba molecular rápida para la detección del gen de la toxina B de *C. difficile* en muestras de heces amorfas obtenidas de pacientes sospechosos de padecer una infección por CDI.

Explicación de la prueba

La prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System (en adelante, “cobas® Cdiff”) es una prueba rápida que automatiza completamente la preparación de muestras, la amplificación mediante PCR y la detección en tiempo real de secuencias de ADN de fragmento objetivo en el cobas® Liat® Analyzer. La prueba cobas® Cdiff consta de un tubo de ensayo cobas® Cdiff desechable de uso único que contiene los reactivos para la purificación de ácidos nucleicos y la PCR, además de un control interno (*Bacillus thuringiensis israelensis* o Bti). En el tubo de ensayo cobas® Cdiff se llevan a cabo la preparación de la muestra y los procesos de PCR. El tubo de ensayo cobas® Cdiff es estanco, lo que reduce el riesgo de contaminación por arrastre entre muestras.

Principios del procedimiento

Preparación de las muestras

Los organismos presentes en las muestras de heces se lisan mediante un agente caotrópico y proteinasa K. Los ácidos nucleicos liberados, incluido el ADN del control interno Bti, se unen mediante micropartículas magnéticas. Las partículas se lavan y se eluyen los ácidos nucleicos unidos en un volumen reducido de tampón y posteriormente se mezclan con el reactivo de Master Mix y el cofactor activador para la reacción de PCR.

Amplificación mediante PCR y detección mediante TaqMan®

El reactivo de Master Mix contiene pares de cebadores y sondas para la toxina B de *C. difficile* y el control interno. Si las secuencias objetivo de ácidos nucleicos están presentes, la amplificación con los cebadores correspondientes se producirá mediante ADN polimerasa termoestable que generará productos de PCR (amplicones). Estos productos se detectan mediante sondas TaqMan® específicas que contienen un marcador emisor fluorescente y un enmascarador. Por lo general, el enmascarador suprime la señal fluorescente del marcador emisor. Sin embargo, la presencia del producto de la PCR hace que la sonda se hibride con el producto y se escinda por la actividad de la nucleasa 5'-3' de la polimerasa, con lo que se separa el marcador emisor del enmascarador. Esta reacción permite que el marcador emisor emita fluorescencia y que el cobas® Liat® Analyzer pueda registrar la señal en tiempo real durante cada ciclo de la PCR. Esta señal se interpreta mediante el programa del cobas® Liat® System y se comunica como resultado final.

Amplificación selectiva

cobas® Cdiff lleva a cabo la amplificación selectiva de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo de la muestra mediante el uso de la enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) y el trifosfato de desoxiuridina (dUTP). La enzima AmpErase reconoce y cataliza la destrucción de las cadenas de ADN que contienen desoxiuridina¹⁹, pero no del ADN que contiene desoxitimidina. El ADN natural carece de desoxiuridina, que sin embargo está siempre presente en los amplicones debido al empleo de trifosfato de desoxiuridina en lugar de trifosfato de timidina como uno de los dNTP del reactivo de Master Mix; por lo tanto, solamente el amplicón contiene desoxiuridina. La desoxiuridina hace que la enzima AmpErase pueda destruir el amplicón contaminante antes de realizar la amplificación del ADN del fragmento objetivo. La enzima AmpErase, que se incluye en el reactivo de mezcla maestra, cataliza la escisión del ADN que contiene desoxiuridina en la posición de los residuos de desoxiuridina abriendo la cadena de desoxirribosa en la posición C1. Cuando se calienta en el primer paso del ciclo térmico para alcanzar el pH alcalino de la mezcla maestra, la cadena de ADN del amplicón se rompe en la posición de la desoxiuridina, lo que hace que el ADN ya no pueda amplificarse. La enzima AmpErase es inactiva a temperaturas superiores a los 55 °C, es decir, durante los pasos de la ciclación térmica y, por consiguiente, no destruye el amplicón objetivo. Se ha demostrado que cobas® Cdiff es capaz de inactivar un mínimo de 1.000 copias del amplicón de *C. difficile* que contiene desoxiuridina por cada ciclo de la PCR.

Reactivos y materiales

Reactivos y controles de cobas® Cdiff

Tabla 1: cobas® Cdiff

Prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System		
Almacenar a 2-8 °C 20 pruebas (P/N 07454945190)		
Reactivos del tubo de ensayo cobas® Cdiff	Composición del reactivo	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® Liat® Cdiff Internal Control (Control interno)	PBS Tween-80 0,01 % de conservante ProClin® 300 Glicerol EDTA < 1 % de stock de Bti (inactivado)	 <p>PELIGRO</p> <p>H302 + H332 Nocivo en caso de ingestión o inhalación.</p> <p>H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.</p> <p>H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.</p> <p>H334 Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.</p> <p>H412 Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.</p> <p>EUH032 En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos.</p> <p>P261 Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/ los vapores/el aerosol.</p> <p>P280 Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.</p> <p>P303 + P361 + P353 EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): quitar inmediatamente todas las prendas contaminadas. Enjuagar la piel con agua.</p> <p>P304 + P340 + P310 EN CASO DE INHALACIÓN: transportar a la persona al aire libre y mantenerla en una posición que le facilite la respiración. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P305 + P351 + P338 + P310 EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. Llamar inmediatamente a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>P342 + P311 En caso de síntomas respiratorios: llamar a un CENTRO DE TOXICOLOGÍA/médico.</p> <p>EUH210 Puede solicitarse la ficha de datos de seguridad.</p> <p>EUH208 Contiene una mezcla de: 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-ona y 2-metil-2H-isotiazol-3-ona (3:1). Puede provocar una reacción alérgica.</p> <p>39450-01-6 Proteínasa, serina de Tritirachium album</p> <p>593-84-0 Tiocianato de guanidina</p> <p>9002-92-0 Polidocanol</p>
cobas® Liat® Proteinase K (Proteinasa K)	Tampón Tris EDTA Cloruro de calcio Acetato de calcio < 2,0 % de proteinasa K ^b Glicerina	
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (Micropartículas magnéticas)	Micropartículas magnéticas Agua	
cobas® Liat® Lysis Buffer (Tampón de lisis)	Citrato de sodio 3 % de polidocanol ^b 42,6 % de tiocianato de guanidina ^b Ditiotreitol	
cobas® Liat® Wash Buffer (Tampón de lavado)	Citrato de sodio dihidratado 0,05 % de N-metilisotiazolona-HCl	
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (Tampón de elución 1)	Albúmina sérica humana recombinante Tampón Tris-HCl 0,09 % de azida sódica	

Prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System		
Almacenar a 2-8 °C 20 pruebas (P/N 07454945190)		
Reactivos del tubo de ensayo cobas® Cdiff	Composición del reactivo	Símbolo de seguridad y advertencia ^a
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1 (Reactivo 1 de Master Mix)	Tampón Tricina EDTA DMSO Acetato de potasio Hidróxido potásico < 0,01 % de cebadores ascendentes y descendentes para <i>C. difficile</i> y control interno < 0,01 % de sondas con marcador fluorescente para la detección del control interno y de <i>C. difficile</i> 0,09 % de azida sódica	
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2 (Reactivo 2 de Master Mix)	DMSO Tween 20 < 0,19 % de dATP, dCTP, dGTP y dUTP < 0,01 % de aptámero oligonucleótido < 0,01 % de ADN polimerasa Z05 (microbiana) < 0,02 % de enzima AmpErase (uracil-N-glicosilasa) (microbiana) 0,09 % de azida sódica	
cobas® Liat® Cdiff Cofactor	Acetato de manganeso Acetato de magnesio Albúmina sérica bovina procedente de plasma bovino obtenido en Estados Unidos 0,09 % de azida sódica	

^a Las etiquetas de seguridad del producto se basan fundamentalmente en la regulación GHS de la UE.

^b Mezcla o sustancia peligrosa.

Tabla 2: Kit de control positivo y negativo de cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System

Kit de control positivo y negativo de cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System			
Almacenar a 15-30 °C 5 juegos (P/N 07454970190)			
Componentes del kit	Composición del reactivo	Cantidad por kit	Símbolo de seguridad y advertencia
Cdiff (+) C (Control positivo de cobas® Liat® Cdiff)	Tampón Tris EDTA < 0,01 % de ARN poli Ar (sintético) 0,05 % de azida sódica < 0,01 % de ADN plasmídico no infeccioso (microbiano) con secuencias de <i>C. difficile</i>	5 viales	N/A
BUF (-) C (Control negativo de cobas® Liat®)	Tampón Tris EDTA 0,05 % de azida sódica < 0,01 % de ARN poli Ar (sintético)	5 viales	N/A

Almacenamiento y manipulación de los reactivos

Tabla 3: Almacenamiento y manipulación de los reactivos

Reactivo	Temperatura de almacenamiento	Periodo de almacenamiento
Prueba de ácidos nucleicos cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System	2-8 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada
Kit de control positivo y negativo de cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System	15-30 °C	Estable hasta la fecha de caducidad indicada

Nota: no congele los reactivos.

La fecha de caducidad de los reactivos se basa en el tiempo universal coordinado (UTC). La hora local para la caducidad de los reactivos puede variar en ±12 horas, en función de la zona horaria local con relación al UTC.

Material adicional necesario

Tabla 4: Material adicional necesario

Materiales	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Guantes de laboratorio, sin polvo	Se aceptan todos los tipos de guantes de laboratorio sin polvo.

Para obtener más información sobre el material de venta independiente, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Material opcional

Tabla 5: Material opcional

Material	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit	07958056190

Para obtener más información sobre el material opcional, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Equipos y programas necesarios pero no suministrados

Tabla 6: Equipos y programas necesarios pero no suministrados

Equipos y programas necesarios, no suministrados
cobas® Liat® Analyzer (P/N 07341920190) <ul style="list-style-type: none"> Incluye el programa cobas® Liat® System (Core) versión 3.3.0 o posterior
cobas® Cdiff Script v1.1 o posterior

Para obtener más información sobre los equipos y programas necesarios, póngase en contacto con su representante local de Roche.

Precauciones y requisitos de manipulación

Advertencias y precauciones

Como sucede con cualquier procedimiento analítico, resulta esencial seguir las buenas prácticas de laboratorio recomendadas para obtener un rendimiento correcto del ensayo. Debido a la elevada sensibilidad analítica de esta prueba, deben extremarse las precauciones para evitar cualquier tipo de contaminación de los reactivos, las muestras y las mezclas de amplificación.

- Para diagnóstico *in vitro* exclusivamente.
- Evite la contaminación microbiana y del ADN de los reactivos y las muestras.
- Puede solicitar Hojas de datos de seguridad (Safety Data Sheets, SDS) al representante local de Roche.
- El tampón de lisis **cobas® Liat®** (reactivo LYS) contiene tiocianato de guanidina. Evite el contacto directo entre el tiocianato de guanidina y el hipoclorito de sodio (lejía) u otros reactivos altamente reactivos como ácidos o bases. Tales mezclas pueden producir gases nocivos.
- El tampón de elución 1 **cobas® Liat®** (EB), el reactivo 1 de Master Mix **cobas® Liat® Cdiff** (Cdiff MMX-1), el reactivo 2 de Master Mix **cobas® Liat® Cdiff** (Cdiff MMX-2), el cofactor **cobas® Liat® Cdiff**, BUF (-) C y Cdiff (+) C contienen azida sódica.
- Si desea conocer las advertencias, precauciones y procedimientos adicionales para reducir el riesgo de contaminación del **cobas® Liat® Analyzer**, consulte la última Guía del usuario del **cobas® Liat® System**.

Buenas prácticas de laboratorio

- No pipetee con la boca.
- No se debe comer, beber ni fumar en las áreas de trabajo.
- Lávese a conciencia las manos después de manipular las muestras y los reactivos del kit.
- Según las políticas institucionales, debe utilizar guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule los reactivos. Evite el contacto de estos materiales con la piel, los ojos o las membranas mucosas. En caso de contacto, lave inmediatamente la zona afectada con abundante agua. Pueden producirse quemaduras si no se actúa adecuadamente. Si se producen derrames, diluya las manchas con agua antes de secarlas con un paño.
- La incorporación de la enzima AmpErase al reactivo de Master Mix **cobas**® Liat® Cdiff permite realizar una amplificación selectiva del ADN de fragmento objetivo; no obstante, es imprescindible utilizar las prácticas de laboratorio recomendadas y cumplir estrictamente los procedimientos especificados en este documento de instrucciones de uso para evitar la contaminación de los reactivos y de las mezclas de amplificación.
- Limpie y desinfecte minuciosamente todas las superficies de trabajo del laboratorio usando una solución recién preparada de hipoclorito de sodio al 0,5 % en agua destilada o desionizada (lejía doméstica diluida al 1:10). A continuación, límpielas con un trapo impregnado en etanol al 70 %.

Contaminación

- A fin de evitar la contaminación, es obligatorio el uso de guantes durante la manipulación de las muestras y el tubo de ensayo **cobas**® Cdiff o los viales de control, así como cambiarse los guantes entre un proceso y otro. Evite la contaminación de los guantes durante la manipulación de las muestras y de los controles. Utilice guantes de laboratorio, batas de laboratorio y protección ocular cuando manipule las muestras y los reactivos del kit.
- Evite la contaminación microbiana y con ribonucleasa de los reactivos.
- Podrían obtenerse falsos positivos si no se evita la contaminación por arrastre de las muestras durante su manipulación.
- Las muestras deben tratarse como material infeccioso y, como tal, deben aplicarse los procedimientos de seguridad de laboratorio descritos en la publicación Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁰ y en el documento M29-A4 del CLSI.²¹

Integridad

- No utilice los kits después de la fecha de caducidad.
- No haga pooles con los reactivos.
- No utilice un tubo de ensayo **cobas**® Cdiff dañado o un tubo de ensayo **cobas**® Cdiff que se haya caído tras sacarlo de la bolsa.
- No reutilice los tubos de ensayo **cobas**® Cdiff. Si un tubo de ensayo **cobas**® Cdiff no está protegido con una funda o si el compartimento para la muestra del tubo contiene líquido, NO lo utilice.
- Debe realizarse un correcto mantenimiento del equipo, de acuerdo con lo establecido en las instrucciones del fabricante.
- Todos los kits de reactivo deben almacenarse de forma adecuada. Consulte la Tabla 3.

Eliminación de residuos

- El tubo de ensayo **cobas**® Cdiff debería desecharse en un recipiente de residuos biopeligrosos apropiado, tal como se especifique en los estándares de seguridad y salud ambiental específicos de su centro.
- Los reactivos y controles de **cobas**® Cdiff contienen azida sódica (consulte el apartado “Advertencias y precauciones”). La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo o cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Cuando elimine soluciones que contengan azida sódica vertiéndolas en fregaderos de laboratorio, deje correr abundante agua fría para evitar la formación de depósitos de azida.
- Deseche los tubos de ensayo no utilizados y los residuos según la reglamentación nacional, federal, estatal y local.

Limpieza de derrames

- Si se produce un derrame en el **cobas**® Liat® Analyzer, siga las instrucciones de limpieza correspondientes que se detallan en la Guía del usuario del **cobas**® Liat® System.

Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras

Manipule todas las muestras como si pudieran transmitir agentes infecciosos.

Obtención de las muestras

cobas® Cdiff debería utilizarse únicamente con **muestras de heces amorfas o blandas**. Es lo que se conoce como muestra de heces que adopta la forma del recipiente contenedor. Recoja las muestras de heces en un recipiente limpio, seco y sin utilizar siguiendo los procedimientos operativos estándar de su centro.

Almacenamiento y estabilidad de las muestras durante el transporte

Las muestras de heces amorfas permanecen estables a temperatura ambiente (2-30 °C) durante 2 días o bien a 2-8 °C durante 9 días antes de ser transferidas a **cobas**® PCR Media y analizadas en el **cobas**® Liat® System (datos comprobados mediante el análisis de muestras después de un almacenamiento consecutivo a 30 °C \pm 1 °C durante 2 días, seguido de un almacenamiento a 2-8 °C durante 7 días).

Una muestra de heces resuspendida en **cobas**® PCR Media se mantiene estable a 2-30 °C durante 7 días antes de su análisis en el **cobas**® Liat® System.

El transporte de las muestras de *C. difficile* debe cumplir la reglamentación nacional, federal, estatal y local para el transporte de agentes etiológicos.

Procedimiento analítico

Flujo de trabajo para añadir lotes

Ilustración 1: Flujo de trabajo para añadir lotes

1	Inicie el sistema e inicie sesión.
2	Extraiga los controles y los tubos de ensayo del almacenamiento.
3	En el Menú de ensayos, seleccione "Lote nuevo".
4	Escanee el código de barras de la tarjeta de códigos de barras de ID del boletín técnico.
5	Escanee un control negativo y ejecútelo.
6	Escanee un control positivo y ejecútelo.

Flujo de trabajo para la transferencia de muestras

Ilustración 2: Flujo de trabajo para la transferencia de muestras

1	Sumerja la torunda en la muestra de heces.
2	Inserte la torunda inoculada en un tubo cobas ® PCR Media.
3	Rompa el mango de la torunda por la muesca gris.
4	Tape el tubo y hágalo girar como mínimo 5 veces.

Flujo de trabajo de cobas® Cdiff

Ilustración 3: Flujo de trabajo de cobas® Cdiff

1	Inicie el sistema e inicie sesión.
2	Extraiga las muestras y los tubos de ensayo del almacenamiento.
3	En el menú principal, seleccione "Procesar ensayo".
4	Escanee el código de barras del tubo de ensayo cobas ® Cdiff.
5	Escanee o introduzca el ID de muestra.
6	Añada la muestra al tubo de ensayo cobas ® Cdiff mediante una pipeta de transferencia y vuelva a tapar el tubo.
7	Vuelva a escanear el código de barras del tubo de ensayo cobas ® Cdiff.
8	Inicie el proceso.
9	Revise los resultados.*
10	Descargue y deseche el tubo de ensayo cobas ® Cdiff utilizado.

* Consulte la Guía del usuario del **cobas**® Liat® System actual para obtener información detallada sobre la carga de resultados al LIS.

Instrucciones de uso

Procedimiento para añadir lotes

Antes de utilizar un lote nuevo de tubos de ensayo **cobas**® Cdiff, es preciso ejecutar el procedimiento para añadir lotes al **cobas**® Liat® Analyzer a fin de validar el lote de tubos de ensayo **cobas**® Cdiff en su centro. El procedimiento incluye el análisis de una muestra de control negativo y una muestra de control positivo de Cdiff.

Materiales necesarios para el procedimiento de adición de lotes

- Lote nuevo de la prueba de ácidos nucleicos **cobas**® Cdiff para uso en el **cobas**® Liat® System (dos tubos de ensayo y pipetas)
- Tarjeta de códigos de barras de ID del boletín técnico para el lote nuevo de tubos de ensayo **cobas**® Cdiff
- Control positivo de **cobas**® Liat® Cdiff
- Control negativo de **cobas**® Liat®
- Tarjeta de códigos de barras del control positivo de **cobas**® Liat® Cdiff y el control negativo de **cobas**® Liat®

Nota: *consulte la Guía del usuario del **cobas**® Liat® System para obtener información detallada sobre el funcionamiento.*

Procedimiento

1. Pulse el botón de encendido y apagado para iniciar el **cobas**® Liat® Analyzer.
2. Seleccione **Iniciar ses.** en la pantalla del **cobas**® Liat® Analyzer.
3. Cuando se le solicite, introduzca el nombre del usuario y seleccione **Introducir.**
4. Cuando se le solicite, introduzca la contraseña de usuario y seleccione **Introducir.**

Nota: *es posible que se le solicite confirmación de la lectura de la Guía del usuario (Guía del usuario del **cobas**® Liat® System).*

5. Seleccione **Menú de ensayos** en el menú principal del **cobas**® Liat® Analyzer.
6. Seleccione **Lote nuevo** en la parte inferior de la lista.
7. Cuando se le solicite escanear el ID del boletín (**Escanee ID bol. técn.**), seleccione **Escanear** y escanee la tarjeta de códigos de barras de ID del boletín técnico de **cobas**® Cdiff. Asegúrese de que la luz roja de escaneado cubre por completo el código de barras.

Nota: *es posible que se le solicite confirmación de la lectura del boletín técnico o las instrucciones de uso.*

8. Cuando se le solicite escanear el ID del control negativo (**Escanee ID ctrl. negat.**), seleccione **Escanear** y escanee la tarjeta de códigos de barras del control negativo incluida en el kit de control. Asegúrese de que la luz roja de escaneado cubre por completo el código de barras. A continuación, el **cobas**® Liat® Analyzer mostrará el mensaje **Añadir control neg. & escanear ID de tubo.**
9. Sujete un tubo de control negativo de **cobas**® Liat® en posición vertical y golpéelo suavemente contra una superficie plana para depositar el líquido en la parte inferior del tubo.
10. Abra una bolsa de tubos de ensayo **cobas**® Cdiff (del lote que desee añadir) y extraiga el contenido.
11. Utilice la pipeta de transferencia suministrada en la bolsa para añadir el control negativo de **cobas**® Liat® al tubo de ensayo **cobas**® Cdiff. Apriete con firmeza el bulbo de succión de la pipeta hasta que quede completamente plano y, a continuación, inserte la punta de la pipeta en el líquido y succione la muestra soltando el bulbo lentamente.

Nota: *utilice únicamente la pipeta de transferencia suministrada en la bolsa del tubo de ensayo cobas® Cdiff para transferir los controles y las muestras al tubo de ensayo cobas® Cdiff.*

12. Retire cuidadosamente el tapón del tubo de ensayo cobas® Cdiff e inserte la pipeta en la abertura. Coloque la punta de la pipeta cerca del fondo del segmento abierto.
13. Apriete lentamente el bulbo para vaciar el contenido de la pipeta en el tubo de ensayo cobas® Cdiff. Evite la formación de burbujas en la muestra. No suelte el bulbo mientras la pipeta esté en el tubo de ensayo cobas® Cdiff.

Nota: *no perfora el tubo de ensayo cobas® Cdiff ni la membrana del fondo del compartimento para la muestra. Si se daña cualquiera de estos elementos, es necesario desechar el tubo de ensayo cobas® Cdiff y la pipeta de transferencia y volver a realizar el procedimiento de la prueba con una pipeta y un tubo de ensayo cobas® Cdiff nuevos.*

14. Vuelva a enroscar el tapón en el tubo de ensayo cobas® Cdiff. Deseche la pipeta de transferencia.
15. Seleccione **Escanear** y coloque el tubo de ensayo cobas® Cdiff horizontalmente en la mesa de debajo del lector de códigos de barras de modo que la luz roja de escaneado cubra por completo el código de barras. La puerta para carga de tubos de ensayo situada en la parte superior del cobas® Liat® Analyzer se abrirá automáticamente una vez que se haya leído el código de barras.
16. Retire la funda del tubo de ensayo cobas® Cdiff e inserte inmediatamente el tubo de ensayo cobas® Cdiff en el cobas® Liat® Analyzer hasta que se escuche un clic indicativo de que el tubo de ensayo está en su sitio.

Nota: *el tubo de ensayo cobas® Cdiff solo encaja de una forma: el lateral con ranuras del tubo de ensayo cobas® Cdiff debe estar orientado hacia la izquierda y el tapón en la parte superior.*

17. Si no carga el tubo de ensayo antes de que se cierre la puerta, vuelva a escanear el código de barras del tubo de ensayo cobas® Cdiff y vuelva a cargar el tubo de ensayo cobas® Cdiff. En cuanto el tubo de ensayo cobas® Cdiff esté colocado correctamente, el cobas® Liat® Analyzer cerrará automáticamente la puerta y dará comienzo el análisis.
18. Durante el análisis, el cobas® Liat® Analyzer muestra el progreso del análisis y el tiempo restante estimado. Una vez finalizado el análisis, si aparece el mensaje **Resultado de control negativo aceptado**, seleccione **Confirmar**. Si se rechaza el resultado, repita el proceso del control negativo (pasos 8-18). Si no logra obtener los resultados esperados tras varios procesos control, póngase en contacto con su representante local de Roche.
19. Cuando finaliza la prueba, el cobas® Liat® Analyzer muestra el siguiente mensaje, “Retire el tubo de ensayo despacio...” y abre automáticamente la puerta para carga de tubos de ensayo. Levante poco a poco el tubo de ensayo cobas® Cdiff para extraerlo del cobas® Liat® Analyzer. Deseche el tubo de ensayo cobas® Cdiff usado en un recipiente para material biopeligroso.
20. Seleccione **Atrás** para llevar a cabo la prueba del control positivo de cobas® Liat® Cdiff en el mismo instrumento.
21. Realice los pasos 8-17 utilizando el control positivo de cobas® Liat® Cdiff en lugar del control negativo de cobas® Liat®.
22. Si aparece el mensaje **Resultado del control positivo aceptado. Lote ... añadido** al finalizar el proceso, seleccione **Confirmar** y, a continuación, **Atrás** para volver al menú principal. Si se rechaza el resultado, repita la prueba del control positivo de cobas® Liat® Cdiff. Si no logra obtener los resultados esperados tras varios procesos control, póngase en contacto con su representante local de Roche.
23. Seleccione **Menú de ensayos** para comprobar que se ha añadido el lote nuevo.

Cuando finalice el procedimiento para añadir lotes en un analizador, utilice el menú Herramientas en el cobas® Liat Analyzer con una llave USB para transferir la información de los lotes a otros analizadores de su centro. De este modo, el resto de los analizadores del centro podrán utilizar este lote de tubos de ensayo cobas® Cdiff sin necesidad de tener que realizar el proceso para añadir lotes en cada analizador. Siga las instrucciones de la Guía del usuario del cobas® Liat® System y lleve a cabo el proceso “Exportar lotes de ensayo” en el analizador en el que haya ejecutado el proceso para añadir lotes. A continuación ejecute el procedimiento “Importar lotes de ensayo” en cada uno de los analizadores de su centro.

Transferencia de muestras a cobas® PCR Media

1. Las muestras de heces deben transferirse a un tubo **cobas® PCR Media** y analizarse dentro del periodo de tiempo indicado en el apartado “Obtención, transporte y almacenamiento de las muestras”. En este documento, la muestra de heces original también se denomina “muestra primaria”, mientras que la suspensión de heces en **cobas® PCR Media** (consulte los siguientes pasos) también se denomina “muestra secundaria”.
2. Utilice la torunda suministrada con el **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** para transferir la muestra de heces. Sin tocar el lateral del contenedor de heces, sumerja la punta de la torunda completamente en la muestra de heces, hasta el final de la sección cónica.
3. Extráigala de inmediato e introduzca la torunda inoculada en el tubo **cobas® PCR Media**. No analice la muestra si no hay heces suficientes para sumergir por completo la punta de la torunda.
4. Rompa el mango de la torunda por la marca de muesca gris aplicando presión contra el lateral del tubo **cobas® PCR Media**.
5. Tape el tubo y hágalo girar como mínimo 5 veces.

Nota: *cobas® Cdiff se ha validado para su uso con el cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit. No se ha validado el uso de ningún otro tipo de dispositivo o medio con cobas® Cdiff.*

Nota: *para evitar la contaminación cruzada de las suspensiones de muestras de heces en cobas® PCR Media, utilice los tapones adicionales de colores distintos suministrados con los tubos cobas® PCR Media (neutro; consulte el apartado “Material opcional”) para volver a tapar las suspensiones de muestras tras el análisis.*

Nota: *los tubos cobas® PCR Media contienen volumen suficiente de cobas® PCR Media para realizar varios análisis de las suspensiones de heces en el cobas® Liat® System. El volumen mínimo de suspensión de heces para un proceso de cobas® Cdiff es de 0,2 ml.*

Realización de cobas® Cdiff con muestras clínicas

Material necesario para cobas® Cdiff

- Bolsa de **cobas® Cdiff** con tubo de ensayo **cobas® Cdiff** y pipeta de transferencia
- Muestras de heces transferidas y resuspendidas en **cobas® PCR Media** (consulte el apartado “Transferencia de muestras a **cobas® PCR Media**”)

Procedimiento

1. Asegúrese de que el **cobas® Liat® Analyzer** está encendido.
2. Seleccione **Iniciar ses.** en la pantalla del **cobas® Liat® Analyzer**.
3. Cuando se le solicite, introduzca el nombre del usuario y seleccione **Introducir**.
4. Cuando se le solicite, introduzca la contraseña de usuario y seleccione **Introducir**.

Nota: *es posible que se le solicite confirmación de la lectura de la Guía del usuario (Guía del usuario del cobas® Liat® System).*

5. En el menú principal, seleccione **Procesar ensayo**.
6. Abra una bolsa de tubo de ensayo **cobas® Cdiff** y saque el tubo de ensayo. Cuando se le solicite **Escanear ID del tubo Liat**, seleccione **Escanear** y coloque el tubo de ensayo **cobas® Cdiff** horizontalmente en la mesa de debajo del lector de códigos de barras de modo que la luz roja de escaneo cubra por completo el código de barras.
7. Cuando aparezca el mensaje **Escanear ID muestra**, seleccione **Escanear** para escanear el código de barras de la muestra. Si no se puede escanear la muestra, seleccione **Introducir** para introducir manualmente el ID de la muestra.

Nota: *la configuración del analizador puede requerir la confirmación de la información recibida del paciente. En tal caso, seleccione el botón “Confirmar”.*

8. Cuando se le solicite, añada la muestra al tubo de ensayo cobas® Cdiff.
9. Utilice la pipeta de transferencia suministrada en la bolsa del tubo de ensayo para transferir la muestra secundaria. Apriete con firmeza el bulbo de succión de la pipeta hasta que quede completamente plano y, a continuación, inserte la punta de la pipeta en el líquido y succione la muestra soltando el bulbo lentamente.
10. Retire cuidadosamente el tapón del tubo de ensayo cobas® Cdiff e inserte la pipeta en la abertura. Coloque la punta de la pipeta cerca del fondo del segmento abierto.
11. Apriete lentamente el bulbo para vaciar el contenido de la pipeta en el tubo de ensayo cobas® Cdiff. No suelte el bulbo mientras la pipeta esté en el tubo de ensayo cobas® Cdiff.
12. Vuelva a tapar el tubo de ensayo cobas® Cdiff y deseche la pipeta de transferencia.

Nota: *evite la contaminación de los guantes, el equipo y las superficies de trabajo con los residuos de la pipeta.*

13. Seleccione **Escanear** para volver a escanear el código de barras del mismo tubo de ensayo cobas® Cdiff. La puerta para carga de tubos situada en la parte superior del cobas® Liat® Analyzer se abrirá automáticamente.
14. Retire la funda del tubo de ensayo cobas® Cdiff e inserte inmediatamente el tubo de ensayo cobas® Cdiff en el cobas® Liat® Analyzer hasta que se escuche un clic indicativo de que el tubo de ensayo está en su sitio.

Nota: *el tubo de ensayo cobas® Cdiff solo encaja de una forma: el lateral con ranuras del tubo de ensayo cobas® Cdiff debe estar orientado hacia la izquierda y el tapón en la parte superior.*

15. Si no carga el tubo de ensayo antes de que se cierre la puerta, vuelva a escanear el código de barras del tubo de ensayo cobas® Cdiff y vuelva a cargar el tubo de ensayo cobas® Cdiff. En cuanto el tubo de ensayo cobas® Cdiff esté colocado correctamente, el cobas® Liat® Analyzer cerrará automáticamente la puerta y dará comienzo el análisis.
16. Durante el análisis, el cobas® Liat® Analyzer muestra el progreso del análisis y el tiempo restante estimado. En cuanto finaliza la prueba, el cobas® Liat® Analyzer muestra el siguiente mensaje, “Retire el tubo de ensayo despacio...” y abre automáticamente la puerta para carga de tubos de ensayo. Levante poco a poco el tubo de ensayo cobas® Cdiff para extraerlo del cobas® Liat® Analyzer. Deseche el tubo de ensayo cobas® Cdiff usado en un recipiente para material biopeligroso.
17. Seleccione **Informe** para visualizar el informe de resultados. Si es preciso, seleccione **Imprimir** para imprimir el informe.
18. Seleccione **Atrás** y, a continuación, **Principal** para volver al menú principal y realizar el siguiente análisis.

Realización de procesos de control adicionales

De acuerdo con los requisitos locales, estatales, federales y/o de organismos de acreditación, deberían realizarse procesos de control adicionales con un lote de tubos de ensayo cobas® Cdiff que ya se haya añadido a través del procedimiento para añadir lotes. Utilice el kit de control positivo y negativo de cobas® Cdiff para uso en el cobas® Liat® System para llevar a cabo estos procesos.

Material necesario para la realización de los procesos de control adicionales

- Tubos de ensayo cobas® Cdiff y pipetas de transferencia
- Control positivo de cobas® Liat® Cdiff y/o control negativo de cobas® Liat®
- Tarjetas de códigos de barras correspondientes al control positivo de cobas® Liat® Cdiff y/o el control negativo de cobas® Liat®.

Procedimiento

Utilice el procedimiento que se describe en el apartado “Realización de cobas® Cdiff con muestras clínicas” para llevar a cabo procesos de control adicionales. En el paso 7, asegúrese de utilizar los códigos de barras de control suministrados que se incluyen en el Kit de control positivo y negativo de cobas® Cdiff para escanearlos como códigos de barras de ID de muestra. La interpretación de los resultados de cobas® Cdiff cuando se realizan controles positivos o negativos de Cdiff se muestra en la Tabla 9 y la Tabla 10 del apartado “Interpretación de los resultados”. El uso de códigos de barras distintos de los suministrados puede provocar resultados de control incorrectos.

Resultados

Control de calidad y validez de los resultados

Durante el procedimiento para añadir lotes descrito anteriormente se analiza un control positivo de cobas® Liat® Cdiff y un control negativo de cobas® Liat®. Para que se pueda validar el lote nuevo de tubos de ensayo cobas® Cdiff en el instrumento, es necesario obtener resultados válidos tanto para el control positivo como para el negativo. Se pueden realizar procesos de control adicionales después del procedimiento para añadir lotes. Consulte el apartado “Realización de procesos de control adicionales” de las instrucciones de uso para obtener información detallada.

El control interno de cobas® Liat® Cdiff se suministra con cada tubo de ensayo cobas® Cdiff y se analiza junto con cada muestra durante todo el flujo de trabajo del ensayo.

Control positivo

El control positivo de cobas® Liat® Cdiff contiene ADN plasmídico no infeccioso con secuencias objetivo de *C. difficile*. El control positivo de cobas® Liat® Cdiff verifica la integridad de los reactivos del tubo de ensayo cobas® Cdiff y el funcionamiento correcto del cobas® Liat Analyzer. Si los resultados del control positivo de cobas® Liat® Cdiff no son válidos de forma frecuente, póngase en contacto con su representante local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control negativo

El control negativo de cobas® Liat® no contiene fragmento objetivo y supervisa la posible contaminación del fragmento objetivo en el flujo de trabajo o el entorno. Si los resultados del control negativo de cobas® Liat® no son válidos de forma frecuente, póngase en contacto con su representante local de Roche para recibir asistencia técnica.

Control interno

El tubo de ensayo incluye un control interno (Bti) para todos los organismos que se añade automáticamente a todas las muestras al inicio de la preparación. El control interno de cobas® Liat® Cdiff es una bacteria químicamente inactivada que se incluye en todos los tubos de ensayo cobas® Cdiff y se procesa con cada una de las muestras. El control interno comprueba que el procesamiento de las bacterias del fragmento objetivo se realice de forma adecuada en todos los pasos del ensayo y controla la presencia de inhibidores durante la preparación de la muestra y la PCR. El control interno de cobas® Liat® Cdiff debería ser positivo para las muestras negativas y puede ser negativo o positivo para las muestras positivas para Cdiff.

Interpretación de los resultados

Nota: la validación de todas las muestras y los procesos de control se lleva a cabo mediante el cobas® Liat® System.

Los resultados obtenidos al realizar un procedimiento para añadir lotes se interpretan tal como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7: Interpretación de los resultados de cobas® Cdiff al realizar un procedimiento para añadir lotes

Visualización del resultado en el cobas® Liat® Analyzer	Impresión e interpretación de los resultados del informe
Control neg. válido	Control neg. válido El control es negativo para la presencia de ADN de <i>C. difficile</i> .
Ctrol. neg. no válido. Repita proceso.	Ctrol. neg. no válido El resultado no es válido. El control negativo debe volver a analizarse para obtener un resultado válido. Repita el proceso.
Control pos. válido	Control pos. válido El control es positivo para la presencia de ADN de <i>C. difficile</i> .
Ctrol. pos. no válido. Repita proceso.	Ctrol. pos. no válido El resultado no es válido. El control positivo debe volver a analizarse para obtener resultados válidos. Repita el proceso.

Los resultados de las muestras se interpretan como se indica en la Tabla 8.

Tabla 8: Interpretación de los resultados de cobas® Cdiff cuando se analiza una muestra clínica

Visualización del resultado en el cobas® Liat® Analyzer	Impresión e interpretación de los resultados del informe
Cdiff Detectado	Cdiff Detectado La muestra es positiva para la presencia de ADN de <i>C. difficile</i> .
Cdiff No detectado	Cdiff No detectado* La muestra es negativa para el ADN de <i>C. difficile</i> o bien, si está presente, no se ha detectado.
Cdiff No válido	Cdiff No válido** El resultado no es válido. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido. Consulte el apartado "Procedimiento sugerido para la repetición de pruebas".
Ensayo anulado por el usuario	Ensayo anulado por el usuario Proceso anulado por el usuario. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido. Consulte el apartado "Procedimiento sugerido para la repetición de pruebas".
Ensayo anulado por el sistema	Ensayo anulado por el sistema Proceso anulado por el sistema. Se ha tenido que volver a analizar la muestra original para obtener un resultado válido. Consulte el apartado "Procedimiento sugerido para la repetición de pruebas".

* Un resultado negativo no descarta la presencia de ADN de *C. difficile* porque los resultados dependen de una recogida adecuada de las muestras, de la ausencia de inhibidores y de que haya ADN suficiente para la detección.

** Pueden obtenerse resultados no válidos si la muestra contiene un exceso de heces o sustancias interferentes que impidan la extracción y/o amplificación y detección de los ácidos nucleicos del fragmento objetivo. Consulte el apartado "Limitaciones del procedimiento" para obtener una lista de las sustancias interferentes. Un volumen de muestra insuficiente también puede provocar resultados no válidos. El volumen mínimo para la suspensión de heces en cobas® PCR Media necesario para cobas® Cdiff es de 0,2 ml.

Los resultados obtenidos para el análisis de controles adicionales tras realizar un procedimiento para añadir lotes se interpretan tal como se muestra en la Tabla 9 y la Tabla 10.

Tabla 9: Interpretación de los resultados de cobas® Cdiff con un control positivo

Visualización del resultado en el cobas® Liat® Analyzer	Impresión e interpretación de los resultados del informe
Control pos. válido	Control pos. válido El control es positivo para la presencia de ADN de <i>C. difficile</i> .
Ctrol. pos. no válido	Ctrol. pos. no válido El resultado no es válido. El control positivo debe volver a analizarse para obtener resultados válidos. Repita el proceso.

Tabla 10: Interpretación de los resultados de cobas® Cdiff con un control negativo

Visualización del resultado en el cobas® Liat® Analyzer	Impresión e interpretación de los resultados del informe
Control neg. válido	Control neg. válido El control es negativo para la presencia de ADN de <i>C. difficile</i> .
Ctrol. neg. no válido	Ctrol. neg. no válido El resultado no es válido. El control negativo debe volver a analizarse para obtener un resultado válido. Repita el proceso.

Procedimiento sugerido para la repetición de pruebas

Los procesos no válidos y erróneos/cancelados pueden repetirse una vez utilizando la misma muestra secundaria. Si la repetición del proceso continúa siendo no válida, puede prepararse una nueva muestra secundaria a partir de la muestra de heces primaria. Si es posible, también puede obtener una nueva muestra primaria para un nuevo análisis con cobas® Cdiff.

Limitaciones del procedimiento

1. El uso de cobas® Cdiff únicamente se ha validado para muestras de heces amorfas o blandas transferidas a tubos cobas® PCR Media de acuerdo con el presente documento de instrucciones de uso (también denominado “boletín técnico”).
2. La obtención de resultados fiables depende de que la obtención, el transporte, el almacenamiento y el procesamiento de las muestras sean adecuados. Siga los procedimientos descritos en este documento de instrucciones de uso para cobas® Cdiff y la Guía del usuario del cobas® Liat® System.
3. La detección de ADN de *C. difficile* depende del número de organismos presentes en la muestra y puede verse afectada por los métodos de obtención/procesamiento de las muestras, el historial de hospitalización, el régimen de tratamiento con antibióticos y las cepas de *C. difficile*.
4. Pueden obtenerse falsos negativos o resultados no válidos debido a la interferencia de diversas sustancias. cobas® Cdiff incluye un control interno para identificar las muestras que contienen sustancias que pueden interferir en el aislamiento de ácidos nucleicos y la amplificación mediante PCR. Entre las sustancias interferentes conocidas se incluyen, entre otras:
 - Las muestras con un contenido superior al 50 % (p/v) de mucina pueden generar resultados falsos negativos.

5. Un resultado positivo indica la presencia de ADN de *C. difficile* y no necesariamente de organismos viables. Por lo tanto, no se recomienda utilizar esta prueba para la supervisión de tratamientos ni como prueba indicativa de curación.
6. Las mutaciones o los polimorfismos en las regiones de unión de los cebadores o las sondas pueden interferir en la detección de variantes nuevas o no conocidas, lo que resulta en un falso negativo con **cobas**® Cdiff.
7. El valor predictivo de un ensayo depende de la prevalencia de la enfermedad en una población concreta.
8. El uso de este producto debe limitarse al personal con formación en el empleo del **cobas**® Liat® System.

Características de rendimiento no clínicas

Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección o LoD) de **cobas**® Cdiff se ha determinado mediante el análisis de cultivos cuantificados de *C. difficile* diluidos con diferentes niveles de concentración en suspensión de material de referencia de heces negativo recogido en **cobas**® PCR Media. Se analizaron todos los niveles con tres réplicas mediante dos lotes únicos de tubos de ensayo **cobas**® Cdiff. Se analizó el nivel mínimo con una tasa de positividad del 100 % con réplicas adicionales para confirmar el nivel del LoD. Cuando la tasa de positividad general de dicho nivel era inferior al 95 %, se analizó el panel superior con réplicas adicionales. El nivel del LoD final se confirmó con un mínimo de 21 réplicas adicionales. El LoD de esta prueba se define como la concentración objetivo que puede detectarse como positiva en ≥ 95 % de las réplicas analizadas, según los resultados generados por el lote de reactivos con un peor rendimiento.

Los resultados del estudio de sensibilidad analítica se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11: LoD (límite de detección) del ensayo cobas® Cdiff

ID de la cepa	Toxinotipo	Tipo REA*	Tipo PFG†	Ribotipo	Fenotipo	LoD (UFC/torunda)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N/A	N/A	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Análisis por endonucleasas de restricción. † Gel de campo pulsante.

Detección de genotipos de *C. difficile*

El límite de detección de **cobas**® Cdiff se comprobó mediante 37 cepas toxigénicas representativas de toxinotipos adicionales mediante el análisis de tres réplicas por cepa con un LoD triplicado (270 UFC/torunda) de ATCC 43255. Las diluciones y muestras para el análisis se prepararon de manera similar al estudio del límite de detección (LoD) descrito anteriormente.

Las 37 cepas toxigénicas (Tabla 12) se detectaron como 100 % positivas en el estudio, lo que confirma que **cobas**® Cdiff puede detectar dichos toxinotipos de *C. difficile*.

Tabla 12: Resumen de los resultados de verificación de cepas toxigénicas de *C. difficile*

	Cepa de Cdiff	Toxinotipo	Ribotipo	Tasa de positividad
1	ATCC# BAA-1382; 630	0	12	100,00 %
2	EX 623	I	102	100,00 %
3	AC 008	II	103	100,00 %
4	2004118; CDC-204118 (NAP-1)	III	27	100,00 %
5	SE 844	IIIa	80	100,00 %
6	CH6230	IIIc	N/A	100,00 %
7	P43	IV	N/A	100,00 %
8	55.767	IV	23	100,00 %
9	2748-06	V	78	100,00 %
10	SE 881	V	45	100,00 %
11	SE 1203	VI	33	100,00 %
12	57.267	VII	63	100,00 %
13	ATCC# 43598; 1470	VIII	17	100,00 %
14	51.680	IX	19	100,00 %
15	CCUG 8864/STCC20309	X	36	100,00 %
16	F15	XII	N/A	100,00 %
17	IS 25	XII	56	100,00 %
18	R 9367	XIII	70	100,00 %
19	R 10870	XIV (XIVa nuevo)	111	100,00 %
20	R 9385	XV (XIVb nuevo)	122	100,00 %
21	SUC36	XVI	78	100,00 %
22	No 1313	XVII	232	100,00 %
23	K095	XVIII	14	100,00 %
24	TR13	XIX	N/A	100,00 %
25	TR14	XX	N/A	100,00 %
26	CH6223	XXI	N/A	100,00 %
27	CD07-468	XXII	N/A	100,00 %
28	8.785	XXIII (IXc nuevo)	N/A	100,00 %
29	597B	XXIV	131	100,00 %
30	7.325	XXV	27	100,00 %
31	7.459	XXVI	N/A	100,00 %
32	KK2443/2006	XXVII	N/A	100,00 %
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00 %
34	CD07-140	XXIX	56	100,00 %
35	ES 130	XXX	N/A	100,00 %
36	WA 151	XXXI	N/A	100,00 %
37	173.070	XXXII	N/A	100,00 %

Precisión

Se realizó un estudio de precisión interna con un panel compuesto por cultivo de *C. difficile* ATCC 43255 diluido en suspensión de heces negativa en cobas® PCR Media con unos niveles de concentración inferiores al límite de detección (LoD), cercanos al LoD y superiores al LoD de cobas® Cdiff. También se analizó un nivel negativo compuesto únicamente por la suspensión de heces negativa en cobas® PCR Media. En el estudio se utilizaron tres lotes únicos de reactivos de cobas® Cdiff y seis instrumentos para obtener un total de 192 procesos durante 12 días. En la Tabla 13 figura una descripción de los paneles de precisión y un resumen del estudio.

El análisis de los componentes de variación (Tabla 14) sugiere que la mayor variabilidad de los valores de Ct objetivo es atribuible a factores aleatorios y del instrumento (67 % y 32 %, respectivamente) para un nivel de concentración igual o cercano al LoD. Para un nivel de concentración superior al LoD, la mayor parte de la variabilidad del valor de Ct responde a factores aleatorios y entre lotes (58 % y 20 %, respectivamente). Los resultados (Tabla 15) muestran un CV (%) global para los valores de Ct del fragmento objetivo de un 2,4 % para un nivel de concentración igual al LoD y de un 2,3 % para un nivel de concentración superior al LoD.

Tabla 13: Análisis de la tasa de positividad del estudio de precisión interna

Miembro del panel	N analizados	N positivos	Tasa de positividad	LC al 95 %	
				Inferior	Superior
Negativo	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
< 1 × LoD	48	33	68,8 %	54,7 %	80,1 %
~1 × LoD	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
~3 × LoD	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

LoD = límite de detección

Tabla 14: Análisis de los componentes de variación de Ct para los miembros del panel de precisión

Nivel	Ct medio	Componentes de variación/ Porcentaje de contribución al total				Total
		Lote	Instrumento	Día	Aleatorios	
~1 × LoD	31,8	0,008	0,189	0	0,398	0,595
		1 %	32 %	0 %	67 %	100,00 %
~3 × LoD	30,3	0,097	0,049	0,055	0,274	0,476
		20 %	10 %	12 %	58 %	100,00 %

LoD = límite de detección

Tabla 15: Análisis de las desviaciones estándar y los coeficientes de variación (%) de Ct para los miembros del panel de precisión

Nivel	Ct medio	Componentes de SD/Porcentaje de CV				Total
		Lote	Instrumento	Día	Aleatorios	
~1 × LoD	31,8	0,089	0,434	0	0,631	0,771
		0,30 %	1,40 %	0 %	2,00 %	2,40 %
~3 × LoD	30,3	0,312	0,222	0,234	0,524	0,69
		1,00 %	0,70 %	0,80 %	1,70 %	2,30 %

LoD = límite de detección

Especificidad analítica

Para valorar la especificidad analítica de cobas® Cdiff se analizaron los siguientes paneles de organismos:

- 1) 118 bacterias, hongos y virus que se pueden encontrar en muestras de heces y un tipo de célula humana (Tabla 16)
- 2) 32 organismos del género *Clostridium*, incluido *C. difficile* no toxigénico (Tabla 17)

La especificidad analítica de *Clostridium botulinum* se confirmó mediante la comparación del programa BLAST con una base de datos de secuencias de nucleótidos, GenBank, para reproducir el paso de generación de amplicones de la PCR.

Todas las bacterias y células humanas se añadieron con una concentración de 1×10^6 unidades*/ml, mientras que los virus se añadieron con una concentración equivalente de 1×10^5 unidades*/ml en una matriz de heces. El análisis se realizó solamente con los organismos o con dos aislados toxigénicos de *C. difficile* presentes individualmente con un límite de detección (LoD) $3 \times$ de cobas® Cdiff. Los resultados indican que ninguno de los organismos interfiere en la detección de los fragmentos objetivo de Cdiff. Tampoco generaron resultados falsos positivos en ausencia del fragmento objetivo de *C. difficile* previsto.

* Las bacterias se cuantificaron como unidades formadoras de colonias (UFC)/ml, las células humanas como células/ml y los virus como TCID₅₀/ml, a excepción de *Chlamydia trachomatis*, que se cuantificó como UFI/ml.

Tabla 16: Microorganismos y células humanas analizados

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter Iwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 35655	<i>Alcaligenes faecalis</i> subesp. <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> subesp. <i>faecalis</i> ATCC 8750	<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteriodes caccae</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 33559	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> subesp. <i>jejuni</i> ATCC 33292	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Chlamydia Trachomatis</i> Serovar L2 LGVII454	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter sedlakii</i>
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus cecorum</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus faecium</i> van A	<i>Enterococcus faecalis</i> Van B
<i>Enterococcus gallinarum</i> van C	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700927
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Hafnia alvei</i>
Células humanas HCT-15	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subesp. <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC BAA-839	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 33584	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Choleraesuis</i> ATCC 7001	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Arizonae</i> ATCC 13314 (anteriormente <i>Salmonella</i> <i>choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> subesp. <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Serratia liquefaciens</i> CMCC 169
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 27592	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus esp. cepa</i> V8 ATCC 12973	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia rohdei</i>	Citomegalovirus (HHV5)
Adenovirus humano tipo 41	Coxsackievirus humano A4	Coxsackievirus humano B4
Echovirus humano 11	Enterovirus humano 71	Rotavirus humano
Norovirus GII	-	-

Tabla 17: Organismos del género *Clostridium*, incluido *C. difficile* no toxigénico

<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bolteae</i>
<i>Clostridium botulinum</i> *	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Clostridioides difficile</i> serogrupo B (no toxigénico)	<i>Clostridioides difficile</i> serogrupo I (no toxigénico)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (tipo no toxigénico XIa)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (tipo no toxigénico XIa)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (tipo no toxigénico XIb)**	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (nueva denominación, <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 15579	<i>Clostridium sporogenes</i> CCRI 11128	<i>Clostridium symbiosum</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tetani</i>	-

* Según el análisis del programa BLAST.

** En la tabla se incluyen tres cepas no toxigénicas de Cdiff (toxina tipo XI) que la prueba **cobas**® Cdiff no detectó durante el estudio de inclusividad.

Interferencia

Se analizaron treinta y ocho medicamentos de uso frecuente, así como grasa fecal, sangre total y mucina, para detectar posibles interferentes con **cobas**® Cdiff. Todas las sustancias se analizaron con niveles superiores a los que cabría esperar razonablemente en una torunda con heces. La cantidad de sustancias interferentes se expresa como concentración en muestras de heces primarias. Se añadieron dos aislados de *C. difficile* con un límite de detección (LoD) 3 × de **cobas**® Cdiff que se utilizaron como valores objetivo de las pruebas. No se observaron interferencias de sustancias exógenas. En el caso de la grasa fecal, no se observaron interferencias hasta el 39 %, para la sangre total, hasta el 100 % y para la mucina, hasta el 50 %. Los resultados se resumen en la Tabla 18.

Tabla 18: Resultados del análisis de sustancias interferentes

Sustancia	Concentración	Resultados
Grasa fecal	0,22-39 % (p/v)	Sin interferencias
Sangre total	100 % (v/v)	Sin interferencias
Mucina	50 % (p/v)	Sin interferencias
Aleve	100 %	Sin interferencias
Mylanta	100 %	Sin interferencias
Anusol	100 %	Sin interferencias
Dulcolax	23 %*	Sin interferencias
Laxante Equate	50 %*	Sin interferencias
Hidrocortisona Equate	100 %	Sin interferencias
Sulfato de bario E-Z-HD	100 %	Sin interferencias
Fleet	100 %	Sin interferencias
Supositorios de glicerina	100 %	Sin interferencias
Supositorios Graval	100 %	Sin interferencias
Gel espermicida Gynol II	10 %*	Sin interferencias
Imodium	100 %	Sin interferencias
Kaopectate	100 %	Sin interferencias
K-Y Jelly	100 %	Sin interferencias
Metronidazol	100 %	Sin interferencias
Miconazole	100 %	Sin interferencias
Aceite mineral	100 %	Sin interferencias
Crema Monistat	100 %	Sin interferencias
Crema de cuidado completo Monistat	100 %	Sin interferencias
Pomada Nystatin	100 %	Sin interferencias
Ácido palmítico	100 %	Sin interferencias
Pedia-Lax	100 %	Sin interferencias
Pepto Bismol	25 %*	Sin interferencias
Hamamelis	50 %*	Sin interferencias
Crema para hemorroides Preparation H	100 %	Sin interferencias
Ungüento para hemorroides Preparation H	100 %	Sin interferencias
Dramamine	12,5 %*	Sin interferencias
Ácido esteárico	100 %	Sin interferencias
Docusato de sodio	100 %	Sin interferencias
Tums	50 %*	Sin interferencias
Suspensión rectal de mesalamina	100 %	Sin interferencias
Crema contra el picor Vagisil	12,5 %*	Sin interferencias
Vancomicina	100 %	Sin interferencias
Vaselina	100 %	Sin interferencias
Protector solar	100 %	Sin interferencias
Aplicador vaginal Monistat	100 %	Sin interferencias
Película anticonceptiva vaginal	100 %	Sin interferencias
Preservativos con espermicida	100 %	Sin interferencias

* Estas concentraciones son superiores a las que cabría esperar razonablemente del uso, la aplicación y posterior transmisión a las muestras de heces para los productos correspondientes.

Correlación

Se comparó el rendimiento de **cobas**® Cdiff con el de una de las prueba de ácidos nucleicos (NAT) comparativa más avanzada disponible en el mercado. Se utilizó como método de referencia un ensayo de citotoxicidad de cultivo tisular en aislados de *C. difficile* procedentes de cultivo directo y enriquecido. Se analizaron 442 muestras de heces obtenidas prospectivamente de dos centros y 284 muestras de heces congeladas y almacenadas procedentes de cinco centros mediante **cobas**® Cdiff y la prueba NAT comparativa. Se envió una segunda alícuota de las muestras a un laboratorio de referencia para analizar la citotoxicidad del cultivo tisular.

Tanto **cobas**® Cdiff como la prueba NAT comparativa más avanzada se realizaron según las instrucciones del fabricante. El ensayo de citotoxicidad del cultivo tisular se llevó a cabo con procedimientos de cultivo directo y enriquecido. Cada muestra de heces se inoculó primero brevemente en agar cicloserina-cefoxitina-fructosa (CCFA-HT) previamente reducido y caldo CCMB TAL. El caldo CCMB TAL se incubó durante 48-72 horas y posteriormente se realizó un subcultivo en agar Brucella durante 5 días a una temperatura de 35 °C. Si las colonias de *C. difficile* eran difíciles de aislar, se realizaba un subcultivo de los organismos en agar CCFA-VA. Las colonias sospechosas se identificaron como *C. difficile* mediante tinción de Gram, aerointolerancia y mediante la prueba Pro-Disk y se inocularon en caldo de carne picada anaeróbico. A continuación se procesan los sobrenadantes obtenidos del caldo de carne picada anaeróbico para la detección de la toxina B de *C. difficile* mediante el ensayo de citotoxicidad de cultivo tisular (prueba C. DIFFICILE TOX-B, Techlab).

Se obtuvieron 155 muestras positivas para *C. difficile* mediante cultivo combinado directo y enriquecido (prevalencia: 21,3 %). La comparación del rendimiento de **cobas**® Cdiff y de la prueba NAT comparativa con el método de cultivo se indica de la Tabla 19 a la Tabla 21. También se muestra la correlación existente entre los resultados de cultivo directo y los resultados de cultivo combinado directo y enriquecido. “Resultados combinados” significa que si el resultado de cultivo directo, de cultivo enriquecido, o de ambos, es positivo, la muestra se considera positiva para el resultado de cultivo combinado. Sin embargo, únicamente se considera que la muestra es negativa para el resultado de cultivo combinado cuando son negativos los dos resultados de cultivo, directo y enriquecido.

Correlación de **cobas**® Cdiff con cultivo

La comparación del rendimiento de **cobas**® Cdiff entre el cultivo directo y el cultivo combinado directo y enriquecido se muestra en la Tabla 19 y la Tabla 20, respectivamente.

Tabla 19: Comparación entre **cobas® Cdiff y cultivo directo**

		Cultivo directo		
		Positivo	Negativo	Total
cobas ® Cdiff	Positiva	129	21	150
	Negativa	9	567	576
	Total	138	588	726
Sensibilidad	93,5 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 88,1-96,5 %)			
Especificidad	96,4 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 94,6-97,7 %)			
Valor predictivo negativo	98,4 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 97,1-99,3 %)			
Valor predictivo positivo	86,0 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 79,5-90,7 %)			

Tabla 20: Comparación entre cobas® Cdiff y cultivo directo y enriquecido

		Cultivo directo y enriquecido		
		Positivo	Negativo	Total
cobas® Cdiff	Positiva	139	11	150
	Negativa	14	562	576
	Total	153	573	726
Sensibilidad		90,8 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 85,2-94,5 %)		
Especificidad		98,1 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 96,6-98,9 %)		
Valor predictivo negativo		97,6 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 96,0-98,5 %)		
Valor predictivo positivo		92,7 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 87,3-95,9 %)		

Correlación de cobas® Cdiff y la prueba NAT comparativa

En la Tabla 21 se muestra el rendimiento de cobas® Cdiff mediante comparación directa con la prueba NAT comparativa más avanzada disponible en el mercado.

Tabla 21: Comparación entre cobas® Cdiff y la prueba de ácidos nucleicos (NAT) comparativa

		NAT comparativa		
		Positiva	Negativa	Total
cobas® Cdiff	Positiva	145	5	150
	Negativa	6	570	576
	Total	151	575	726
Concordancia de positividad		96,0 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 91,6-98,2 %)		
Concordancia de negatividad		99,1 % (intervalo de confianza bilateral al 95 % exacto: 98,0-99,6 %)		

Tasa de resultados no válidos

La tasa de resultados no válidos de la prueba cobas® Cdiff se calculó a partir de 978 resultados de análisis de muestras clínicas individuales, entre las que se incluyen las 726 muestras del estudio de correlación. De las 978 muestras analizadas, 2 obtuvieron resultados no válidos para la prueba cobas® Cdiff. Al repetir el análisis, 1 de las 2 muestras generó un resultado válido mientras que la otra volvió a arrojar un resultado no válido. Por lo tanto, la tasa inicial de resultados no válidos de las muestras para la prueba cobas® Cdiff en este grupo de muestras fue del 0,2 % y la tasa de resultados no válidos tras la repetición del análisis fue del 0,1 %.

Códigos de error

Los códigos de error que se describen en la tabla Tabla 22 pueden aparecer en el informe de resultados según la interpretación y el proceso de cálculo del resultado de la prueba.

Tabla 22: Códigos de error y definiciones

Código de error	Muestra	Control negativo (Añadir lote)	Control positivo (Añadir lote)
r0	IC negativo o no válido. Repita proceso.	IC negativo o no válido. Repita proceso.	IC negativo o no válido. Repita proceso.
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff positivo pero IC negativo o no válido. Repita proceso.	N/A	Cdiff y/o IC negativo o no válido. Repita proceso.
FP	N/A	Cdiff positivo o no válido. Repita proceso.	N/A
g0	N/A	N/A	Cdiff negativo o no válido. Repita proceso.
g1			
g3			
g4			
x5	Volumen de muestra demasiado bajo.	Volumen de muestra demasiado bajo.	Volumen de muestra demasiado bajo.

Nota*: el código de error r3 no aparece para los controles positivo y negativo.

Nota**: el código de error x4 no aparece para el control positivo (Añadir lote). Para el control positivo, el código de error x4 solamente se puede activar cuando el fallo se produce durante los procesos de control positivo adicionales, después de realizar el procedimiento para añadir lotes (consulte el apartado "Realización de procesos de control adicionales").

Para obtener más información sobre los códigos de error, consulte la Guía del usuario del **cobas® Liat® System** más reciente.

Información adicional

Características principales de la prueba

Tipo de muestra	Muestras de heces amorfas
Cantidad de muestra necesaria	Cada cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit incluye 4,3 ml de cobas ® PCR Media (se requiere un mínimo de 0,2 ml para una prueba cobas ® Cdiff).
Duración de la prueba	Los resultados están disponibles al cabo de ~20 minutos tras la carga de la muestra en el sistema.
Sensibilidad analítica	Entre 45 y 90 UFC/torunda según el aislado.
Especificidad	Sin reactividad cruzada con 149 organismos estrechamente relacionados o que suelen estar presentes en las muestras de heces.
Inclusividad	Todas las cepas conocidas de <i>C. difficile</i> (toxintipos 0~XXXI, excepto los toxintipos XI no toxigénicos) incluida la cepa epidémica hipervirulenta BI/NAP1/027.

Símbolos

Los símbolos siguientes se emplean en el rotulado de todos los productos de diagnóstico por PCR de Roche.

Tabla 23: Símbolos utilizados en las etiquetas de los productos de diagnóstico mediante PCR de Roche

 Age/DOB Edad o fecha de nacimiento	 Dispositivo no apto para pruebas cerca del paciente	 QS IU/PCR UI de QS por reacción de PCR, utilice las unidades internacionales (UI) de QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.
 SW Software auxiliar	 Dispositivo no apto para autoexamen	 SN Número de serie
 Assigned Range [copies/mL] Intervalo asignado (copias/ml)	 Distribuidor <i>(Nota: el país o la región se indicará debajo de este símbolo.)</i>	 Site Centro
 Assigned Range [IU/mL] Intervalo asignado (UI/ml)	 No deben reutilizarse	 Procedure Standard Procedimiento estándar
 EC REP Representante autorizado en la Comunidad Europea	 Mujeres	 STERILE EO Esterilizado con óxido de etileno
 BARCODE Hoja de datos del código de barras	 Para evaluación del rendimiento IVD únicamente	 Almacenar en la oscuridad
 LOT Código de serie	 GTIN Global Trade Item Number (número mundial de un artículo comercial)	 Límite de temperatura
 Riesgo biológico	 Importador	 TDF Archivo de definición de pruebas
 REF Número de catálogo	 IVD Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Este lado hacia arriba
 CE Marcado CE de conformidad; este dispositivo cumple con los requisitos aplicables para el marcado CE de un producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> .	 LLR Límite inferior del intervalo asignado	 Procedure UltraSensitive Procedimiento ultrasensible
 Collect Date Fecha de recogida	 Hombres	 UDI Identificación exclusiva del dispositivo
 Consulte las instrucciones de uso	 Fabricante	 ULR Límite superior del intervalo asignado
 Suficiente para <n> pruebas	 CONTROL - Control negativo	 Urine Fill Line Línea de llenado de orina
 CONTENT Contenido del kit	 NON STERILE Sin esterilizar	 Rx Only Solamente para EE. UU.: la ley federal de los Estados Unidos solo autoriza la venta de este dispositivo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica.
 CONTROL Control	 ? Nombre del paciente	 Fecha de caducidad
 Fecha de fabricación	 # Número del paciente	
 Dispositivo para pruebas cerca del paciente	 ✂ Abrir aquí	
 Dispositivo para autoexamen	 CONTROL + Control positivo	
	 QS copies / PCR Copias QS por reacción de PCR, utilice copias QS por reacción de PCR para el cálculo de los resultados.	

Asistencia técnica

Para obtener asistencia técnica, póngase en contacto con su filial local:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Fabricante e importador

Tabla 24: Fabricante e importador



Roche Molecular Systems, Inc.
 1080 US Highway 202 South
 Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabricado en los EE. UU.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Strasse 116
 68305 Mannheim, Germany

Marcas registradas y patentes

Consulte <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
 Sandhofer Str. 116
 68305 Mannheim
 Germany



Bibliografia

1. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing Clostridia. *Am J Vet Res.* 1978;39(9):1525-1530.
2. Larson HE, Price AB, Honour P, Borrielo SP. Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet.* 1978;1(8073):1063-1066.
3. Leffler D.A., Lamont J.T. Clostridium difficile Infection. *N Engl J Med* 2015; 372:1539-1548.
4. Bartlett J. G. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346(5):334-9.
5. Vindigni S. M, Surawicz C. M. C. difficile Infection: Changing Epidemiology and Management Paradigms. *Clinical and Translational Gastroenterology.* 2015; 6, e99; doi:10.1038/ctg.2015.24.
6. Hensgens M. P., Keessen E. C., Squire M. M., Riley T. V., Koene M. G., de Boer E. Clostridium difficile infection in the community: a zoonotic disease? *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(7):635-45.
7. Kelly C. P., LaMont J. T. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40.
8. Wolfhagen M. J., Torensma R., Fluit A. C., J Verhoef. Toxins A and B of Clostridium difficile. *FEMS Microbiol Rev.* 1994;13(1):59-64.
9. Johnson S., Sambol S. P., Brazier J. S., Delmee M., Avesani V., Merrigan M. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile variants. *J Clin Microbiol.* 2003;41(4):1543-7.
10. Brecher S. M., Novak-Weekley S. M., E Nagy. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infections: there is light at the end of the colon. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2013;57(8):1175-81.
11. Surawicz C. M., Brandt L. J., Binion D. G., Ananthakrishnan A. N., Curry S. R., H Gilligan P. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *The American journal of gastroenterology.* 2013;108(4):478-98; quiz 99.
12. Curry SR. Clostridium difficile. *Clinics in Laboratory Medicine.* June 2017;37(2):341-6.
13. Sloan L. M., Duresko B. J., Gustafson D. R., Rosenblatt J. E. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):1996-2001.
14. Deshpande A., Pasupuleti V., Rolston D. D., Jain A., Deshpande N., Pant C. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of Clostridium difficile in the stool samples of patients with suspected Clostridium difficile Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;53(7):e81-90.
15. Kufelnicka A. M., J Kirn T. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis.* 2011;52(12):1451-7.
16. Tenover F. C., Baron E. J., Peterson L. R., H Persing D. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diagn.* 2011;13(6):573-82.
17. Peterson L. R., Mehta M. S., Patel P. A., Hacek D. M., Harazin M., Nagwekar P. Laboratory testing for Clostridium difficile infection: light at the end of the tunnel. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(3):372-80.

18. Monaghan T., Boswell T., Mahida Y. Recent advances in Clostridium difficile-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-60.
19. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.
20. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4: Wayne, PA; CLSI, 2014.

Revisión del documento

Información de revisión del documento	
Doc Rev. 4.0 01/2022	<p>Se ha incluido el símbolo Rx Only en la primera página.</p> <p>Se ha actualizado la página de símbolos armonizados.</p> <p>Se ha incluido la dirección del importador e se han eliminado las direcciones del distribuidor.</p> <p>Se ha incluido el apartado Asistencia técnica.</p> <p>Póngase en contacto con su representante local de Roche para cualquier consulta.</p>