

[Precauciones Generales]

- IVD** Diafactory Tinea Unguium (este equipo) está diseñado únicamente para su uso como diagnóstico in vitro, y no debe emplearse para ningún otro objetivo.
- El usuario deberá evaluar el resultado de este ensayo en conjunción con los síntomas clínicos y los resultados de otras pruebas.
- Este equipo sólo debería usarse como se indica. La fiabilidad de valores no se podrá garantizar si el kit se utiliza para otros objetivos o si las pruebas se realizan por otros métodos que los indicados en el manual.

[Descripción (Componentes del Kit)]

Elementos	Composición.
1 Tiras Reactivas	Anticuerpos monoclonales de ratón (Anti-Trichophyton). Anticuerpos monoclonales de ratón (Anti-Trichophyton) marcados con oro coloidal.
2 Solución de extracción	Tampón etc.

Accesorios: Tubos de ensayo, varillas agitadoras

[Uso al que se destina]

Detección de antígenos de Trichophyton en muestras ungueales (como apoyo al diagnóstico de Tinea unguium).

[Principio del Método]

“Diafactory Tinea Unguium” es un ensayo inmunocromatográfico diseñado para la búsqueda de antígenos de Trichophyton en muestras de uñas, y utiliza anticuerpos monoclonales de ratón frente a Trichophyton inmovilizados sobre una membrana de nitrocelulosa. La tira reactiva usada en el kit se compone de una almohadilla para la muestra, una tira de reactivo, una tira de ensayo y una almohadilla absorbente (Figura 1). La tira de reactivo está sensibilizada con anticuerpos monoclonales de ratón anti-Trichophyton marcados con oro coloidal pre-desechados, y la tira de ensayo contiene anticuerpos monoclonales de ratón anti-Trichophyton tapizando la zona de la línea “Test” y el trazador pre-desechado tapizando la zona de la línea “Control”. Este trazador, es incoloro a pH 3 y vira a rosado a pH aproximadamente 4 o superior, y permite al usuario confirmar que la muestra ha difundido correctamente y ha pasado por la zona de línea “Test”.

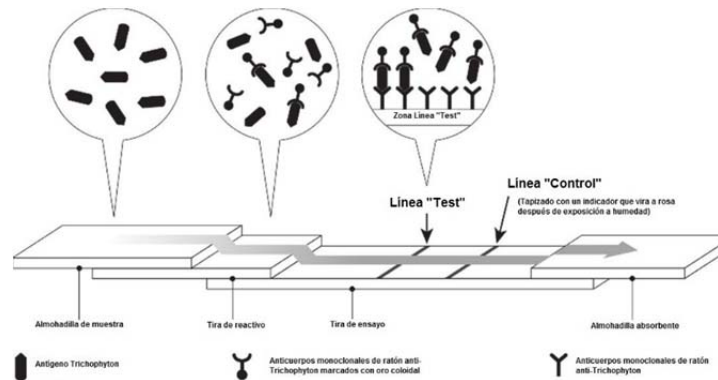
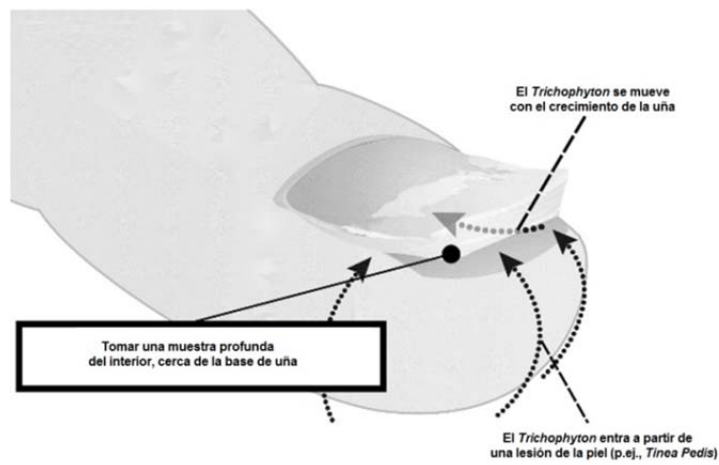


Figura 1. Principio del Método

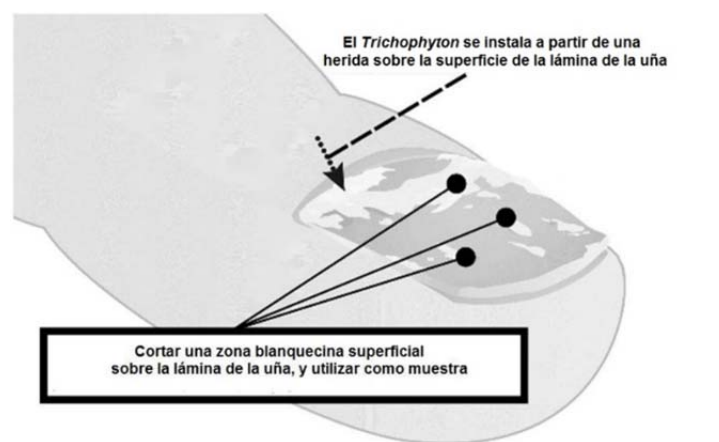
Una muestra que haya impregnado la almohadilla de muestra (en lo sucesivo, "muestra extraída"), se mueve a la tira de reactivo, sobre la cual, los antígenos Trichophyton de la muestra extraída se unirán a los anticuerpos monoclonales de ratón anti-Trichophyton marcados con oro coloidal para formar un inmunocomplejo. Continuando por la tira de ensayo, el inmunocomplejo es capturado por los anticuerpos monoclonales de ratón anti-Trichophyton en la zona de línea “Test”, provocando la aparición de una línea rosa de oro coloidal (en caso de muestra positiva). Si la muestra no contiene antígenos Trichophyton, no se formarán los inmunocomplejos y la muestra con los anticuerpos monoclonales de ratón anti-Trichophyton marcados con oro coloidal sobrantes, tanto si es antígeno Trichophyton positiva como negativa, pasa por la zona de línea “Test” y alcanza la zona de línea “Control”, donde la muestra extraída reacciona con el indicador inmovilizado, provocando la aparición de una banda rosa.

[Precauciones Procesales]

- Precauciones respecto a las muestras
 - Este kit, está diseñado para la detección de antígenos Trichophyton en uñas. No se pueden utilizar descamaciones, cuero cabelludo, pelo u otras muestras..
 - Tomar una muestra de 1 mg o más según las directrices para diagnóstico y tratamiento de infección fúngica cutánea.^{1,2,3} Un procedimiento inadecuado en la recogida o una cantidad insuficiente de muestra tomada puede conducir a resultados falsamente negativos o una incorrecta evaluación.
- Recogida y Preparación de las muestras
 - Según las directrices para el diagnóstico y tratamiento de infección cutánea fúngica,^{1,2,3} tomar una muestra y colocarla en un tubo de ensayo del kit. Utilizar un cortaúñas de tipo pinza limpio o tijeras quirúrgicas para la toma de la muestra.
 - La colección de la muestra debe ser realizada por una persona cualificado por una formación adecuada, con entrenamiento y/o experiencia según las directrices para el diagnóstico y el tratamiento de infecciones cutáneas fúngicas. El procedimiento para la toma de muestras, aparece parcialmente en las imágenes inferiores.
 - Onicomiosis Subungueal Distal y Lateral
 Quitar el área de onicólisis o la punta de la uña, y tomar profundamente una muestra bajo la uña, lo más cerca posible de la cama de uña. Si no se puede tomar dicha muestra, tomar una muestra de la superficie de la piel (en realidad de la cama de la uña), donde está presente la onicólisis.



- Onicomiosis Blanca Superficial
 Quitar la zona blanquecina superficial sobre la lámina de la uña con un cortaúñas de tipo pinza o tijeras quirúrgicas, y usar como muestra.



- Es deseable que la cantidad de muestra sea superior a 1 mg.

3. Influencia de Medicamentos

Se realizó una evaluación para comprobar la influencia sobre el ensayo de antifúngicos orales (terbinafina, itraconazol) que comúnmente se utilizan en el tratamiento de Tinea Unguium. Se sometieron a valoración con el kit, muestras control negativas, positivas y débilmente positivas (preparadas por dilución de la muestra control positiva con la muestra control negativa), que se mezclaron con dichos antifúngicos, no observándose en ningún caso influencia en la reactividad. La concentración de cada droga añadida, era aproximadamente 100 veces la CMI (concentración mínima inhibitoria).

Tabla 1. Influencia de Antifúngicos en las Muestras

Antifúngico	Concentración (µg/mL)	Influencia
Terbinafina	0.5	No se observa
Itraconazol	100	No se observa

4. Otras Precauciones

- El ensayo debe realizarse una vez abierta la bolsa de la tira reactiva.
- No combar o doblar la tira.
- No tocar o dañar la zona de almohadilla de la muestra de la tira reactiva.
- Poner el volumen suficiente de solución de extracción en un tubo de ensayo.
- Las tiras reactivas, solución de extracción, tubos de ensayo y varillas agitadoras del kit, sólo pueden utilizarse una vez. No reutilizar.
- Leer el resultado a los 30 minutos como máximo. El resultado, se determinará como positivo, si aparecen líneas coloreadas tanto en la zona de línea “Test” como en la zona de línea “Control” después de haber transcurrido al menos 5 minutos. Asimismo el resultado, se puede juzgar como negativo si no aparece ninguna línea visible en la zona de línea “Test” y aparece una línea coloreada en la zona de línea “Control” después de haber transcurrido al menos 5 minutos.

[Procedimiento de la Prueba]

1. Procedimiento de ensayo

El procedimiento siguiente se deberá realizar a temperatura ambiente (1 a 30 °C).

- Tomar las cantidades necesarias de tiras reactivas, varillas agitadoras y solución de extracción.
- Dispensar entre 0.25 y 0.5 mL de solución de extracción en el tubo de ensayo (Figura 2). Poner la muestra en el tubo de ensayo y rotar al menos 20 veces con una varilla agitadora empujando la muestra hacia abajo. Después de la agitación, dejar el tubo de ensayo en una gradilla durante al menos 1 minuto.

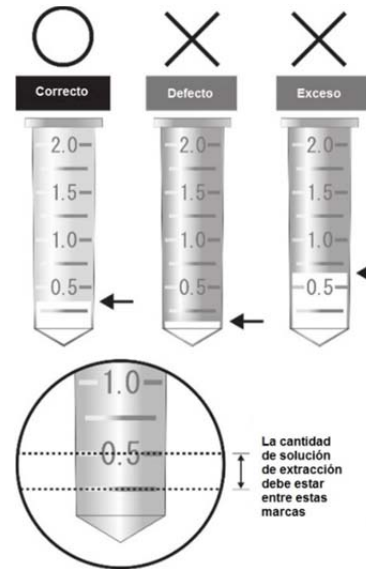


Figura 2

- Romper por el corte la bolsita de aluminio extraer una tira reactiva. Sostener la tira solamente por la zona indicada (opuesta a las flechas). No tocar la almohadilla de muestra (Figura 3).
- Sujetar la tira reactiva en el tubo de ensayo con la almohadilla de la muestra hacia abajo (flechas hacia abajo). Confirmar que la almohadilla de muestra ha alcanzado el extremo inferior del tubo de ensayo.
- Dejar la tira reactiva permanecer al menos 5 minutos y determinar el resultado (positivo, negativo o no válido) visualmente comprobando la presencia o la ausencia de bandas coloreadas en las zonas de línea “Control” y “Test”, hasta 30 minutos después de haber introducido la tira reactiva en el tubo de ensayo.

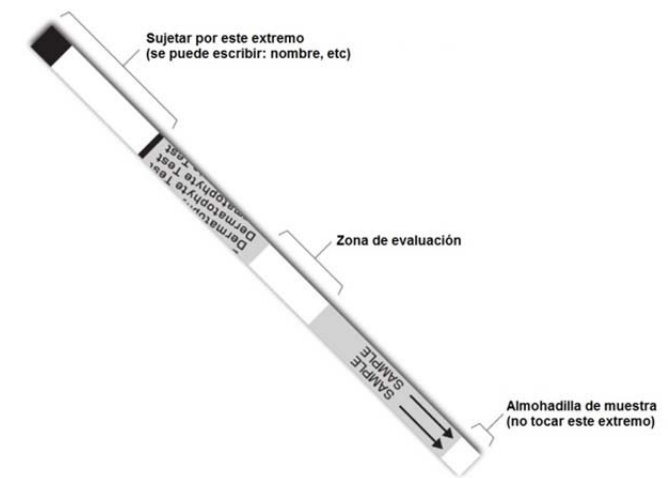


Figure 3

[Interpretación de Resultados]

Interpretación

- La aparición una banda rosa en la zona de línea “Control” y una banda morada en la zona de línea “Test”, indica un resultado positivo para antígeno Trichophyton. La aparición de una banda rosa en la zona de línea “Control” que no va acompañada de banda alguna visible en la zona de línea “Test”, indica un resultado negativo.
- Si no aparece banda rosa alguna en la zona de línea “Control” después de entre 5 y 30 minutos, la prueba es no válida.
- Si la banda en la zona de línea “Test”, apareciese después de 30 minutos, el resultado, es negativo.

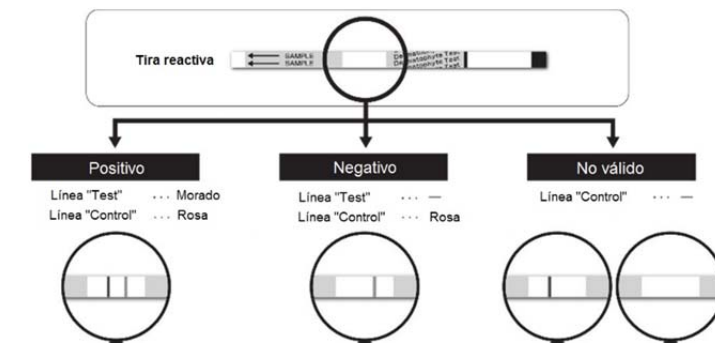


Figura 4

Precauciones en la interpretación

- Si la cantidad de Trichophyton en la muestra de uña es pequeña, el resultado se puede negativizar. El usuario lógicamente, deberá evaluar el resultado de este ensayo conjuntamente con los resultados de otras pruebas y síntomas clínicos.
- Este ensayo, presenta reactividad cruzada con otros hongos distintos a Trichophyton, como *Aspergillus* y *Penicillium*. Estos hongos pueden estar presentes en el suelo u otros entornos e infectar la piel de pacientes inmuno-comprometidos. Esto se deberá de tener en cuenta a la hora de la realización de un diagnóstico.

[Significado Clínico]

“Diafactory Tinea Unguium”, a diferencia de la microscopía directa, no requiere habilidades especiales para determinar si los Trichophyton están presentes o ausentes en la muestra. Asimismo, este kit, a diferencia de la PCR, no requiere equipamiento especial. “Diafactory Tinea Unguium”, que es fácil de usar y proporciona resultados rápidos, es un ensayo eficaz para el diagnóstico rápido de Tinea Unguium.

[Prestaciones de la Prueba]

- Prestaciones
 - Sensibilidad y Precisión
 En el ensayo de un control negativo, el kit proporcionó un resultado negativo.
 En el ensayo de una muestra débilmente positiva y de un control positivo, el kit proporcionó resultados positivos.

(2) Reproducibilidad Intra-ensayo

En el ensayo repetido 4 veces de un control negativo, el kit proporcionó un resultado negativo siempre.

Igualmente, en el ensayo repetido 4 veces de una muestra débilmente positiva y de un control positivo, el kit proporcionó resultados positivos siempre.

(3) Umbral de Sensibilidad

Trichophyton rubrum (NBRC 9185), 0.5 µg peso seco/mL.

(4) Estándar de Referencia para Calibración

Extracto seco de células de *Trichophyton rubrum* (NBRC 9185)

(5) Reactividad Cruzada

Se añadieron a la solución de extracción, células secas autoclavadas de diferentes hongos distintos a *Trichophyton* a una concentración de 300 µg/mL para evaluar la influencia de cada hongo sobre el ensayo. Además, las colonias de varias bacterias cultivadas en placas de agar se añadieron a la solución de extracción para evaluar la influencia de cada bacteria sobre el ensayo. El kit no fue reactivo con los hongos probados, salvo con los que aparecen en listado inferior.

El ensayo no fue reactivo con los hongos que aparecen a continuación.

Aspergillus nidulans, Penicillium citrinum, Scopulariopsis brevicaulis, Alternaria alternate, Pseudallescheria boydii, Scedosporium apiospermum, Prototheca wickerhamii, Schizophyllum commune (1 nucleus), Schizophyllum commune (2nucleii), Absidia corymbifera, Basidiobolus ranarum, Cunninghamella bertholletiae, Mortierella isabellina, Mucor circinelloides, M. racemosus, Rhizomucor pusillus, Rhizopus microsporus var. rhizopodiformis, R. oryzae, R. stolonifer var. reflexus, Syncephalastrum racemosum, Zygorhynchus exponens, Candida albicans, C. dubliniensis, C. tolopicalis, C. parapsilosis, C. guilliermondii, C. glabrata, C. krusei, Geotrichum candidum, Trichosporon asahii, Cryptococcus neoformans serotype A, C. neoformans serotype B, C. neoformans serotype C, C. neoformans serotype D, C. neoformans serotype AD, Sporothrix schenckii, Fonsecaea pedrosoi, Exophiala jeanselmei, Phialophora verrucosa, P. richardsiae, Rhinocladiella atrovirens, Cladophialophora bantiana, Malbranchea albolutea, M. aurantiaca, M. chrysosporioidea hrysosporioidea, M. cinnamomea, M. dendritica, M. filamentosa, M. flava, M. flocciformis, M. fulva, M. graminicola, M. gypsea, M. multicolor, M. pulchella, Malassezia furfur, Gymnoascoides petalosporus, Auxarthron reticulatum, Gymnoascus intermedius, G. petalosporus, G. reessii, G. udagawae, Emmonsia parva var. crescens, E. parva var. parva, Phanerochaete chrysosporium, Apinisia queenslandica, Arthroderma multifidum, Uncinocarpus reesii, Chrysosporium carmichaelii, C. indicum, C. keratinophilum, C. pseudomerdarium

El ensayo fue reactivo con los hongos que aparecen a continuación.

Aspergillus flavus, A. fumigatus, A. niger, A. terreus, Neosartorya fischeri, Paecilomyces lilacinus, Penicillium griseofulvum, Veronaea botryosa, Fusarium solani, Exophiala dermatitidis (M-Y form), E. dermatitidis (G form), E. spinifera, Hortaea werneckii, Malbranchea circinata, M. flavorosea

El ensayo fue no reactivo con las bacterias que aparecen a continuación.

Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, S. faecalis

(6) Reactividad de Dermatofitos

Se añadieron a la solución de extracción, células secas autoclavadas de Dermatofitos a una concentración de 300 µg/mL para evaluar la reactividad del ensayo. El kit fue reactivo con los que aparecen a continuación.

Trichophyton mentagrophytes, T. rubrum, T. tonsurans, T. violaceum, T. verrucosum, Microsporum gypseum, M. canis, Epidermophyton floccosum

2. Resultados del Estudio Clínico de Prestaciones⁵

Se recogieron muestras de uñas en pie o mano según las directrices para el diagnóstico y el tratamiento de infección fúngica cutánea en 222 pacientes (en 11 centros) sospechosos de "Tinea Unguium" en inspección visual. La muestra fue repartida en 3 fragmentos y ensayada respectivamente con el kit, microscopía directa y PCR (sólo muestras en las cuales los resultados del kit y la microscopía directa eran incoherentes). La recogida de la muestra, la microscopía directa, el uso del kit y PCR fueron realizados por personas diferentes en condiciones ciegas.

(1) Comparación entre los resultados de "Diafactory Tinea Unguium" y PCR (y microscopía directa)

Los análisis fueron realizados sobre 222 pacientes. En 5 pacientes en que los resultados del kit y la microscopía directa eran incoherentes y no se podía realizar PCR porque la cantidad de muestra era insuficiente, se utilizó el resultado de microscopía directa.

Tabla 2. Comparación entre los Resultados de "Diafactory Tinea Unguium" y PCR que incorpora Microscopía Directa

		PCR incorporando microscopía directa		
		Positivo	Negativo	Total
Diafactory Tinea Unguium	Positivo	196	5	201
	Negativo	6	15	21
	Total	202	20	222

Sensibilidad: 97.0%
Especificidad: 75.0%
Correlación Total: 95.0%
Correlación Negativa: 71.4%
Correlación Positiva: 97.5%

(2) Comparación entre los resultados de Diafactory Tinea Unguium y el diagnóstico final del dermatólogo (basado en los resultados de microscopía directa, PCR, clínica, recogida de muestra, etc.)

Los análisis fueron realizados sobre 217 pacientes, excluyendo a 5 pacientes en quien la PCR no se pudo realizar porque la cantidad de muestra era insuficiente y no se pudo realizar un diagnóstico final. Los análisis fueron realizados sobre 222 pacientes. En 5 pacientes en que los resultados del kit y la microscopía directa eran incoherentes y no se podía realizar PCR porque la cantidad de muestra era insuficiente, se utilizó el resultado de microscopía directa.


Tabla 3. Comparación entre los resultados de Diafactory Tinea Unguium y el diagnóstico final

		Diagnóstico Final		
		Tinea Unguium	No Tinea Unguium	Total
Diafactory Tinea Unguium	Positivo	196	2	198
	Negativo	4	15	19
	Total	200	17	217

Sensibilidad: 98.0%
Especificidad: 88.2%
Correlación Total: 97.2%
Correlación Negativa: 78.9%
Correlación Positiva: 99.0%


[Precauciones de Uso y Manejo]


1. Precauciones en la manipulación (Prevención de Riesgos)

- (1)  Si la solución de extracción contactase directamente con ojos, boca, o piel, como primeros auxilios, aclarar a fondo con agua corriente, y buscar si fuera necesario, tratamiento médico.
- (2) Durante la manipulación de muestras con el kit, utilizar mascarilla, guantes y otra ropa protectora. Lavar a fondo las manos después de las pruebas.
- (3) Todas las muestras usadas para la prueba se deberán manejar como material potencialmente infeccioso. Las tiras reactivas usadas, muestras extraídas, tubos de ensayo y varillas agitadoras se deberán manipular del mismo modo que las muestras.
- (4) Para la prevención de infecciones por salpicaduras de muestras o soluciones que las contengan, limpiar las zonas de derrame y contaminadas energicamente con desinfectantes de tipo soluciones de hipoclorito sódico.

2. Precauciones de uso

- (1) Los reactivos en este equipo solo se pueden usar para la detección de antígenos de Dermatofitos en uñas.
- (2) Emplear instrumentos limpios en la toma de muestras.
- (3) No utilizar el kit después de la fecha de caducidad.

- (4)  Las tiras reactivas, solución de extracción, tubos de ensayo y varillas agitadoras del kit sólo se pueden usar una vez. No reutilizar.

- (5)  El kit se debe almacenar entre 2 y 30°C. Evitar la congelación y la exposición a la luz solar directa.


- (6) No combinar reactivos de lotes diferentes.


3. Precauciones en la eliminación

- (1) Antes de su eliminación, los contenedores y tiras reactivas utilizadas, se deben autoclavar a 121°C durante 20 minutos o sumergir en una solución de hipoclorito sódico durante al menos una hora, como potencialmente infecciosos.

- (2) Los contenedores usados, etc. Se deben incinerar o eliminar como desechos médicos o industriales según las regulaciones de recogida de desechos aplicables.

[Almacenamiento y Vida Útil]

 Temperatura de almacenamiento: 2 a 30°C (No congelar)

 Vida media: 36 meses desde la fecha de la fabricación (fecha de caducidad impresa en el exterior de la caja.)


[Contenido del Envase]





  DE001 ----- 10 tests/kit

[Bibliografía]


- 1. Ameen M, Lear JT, Madan V, Mohd Mustapa MF, Richardson M. British Association of Dermatologists' guidelines for the management of onychomycosis 2014. Br J Dermatol 2014; 171: 937-958.
- 2. Guidelines of care for superficial mycotic infections of the skin: onychomycosis. Guidelines/Outcomes Committee. American Academy of Dermatology. J Am Acad Dermatol 1996; 34: 116-121.
- 3. British Association of Dermatologists: Guidelines for treatment of onychomycosis, Roberts DT., Taylor WD., Boyle J., Br. J. Dermatol., 148, 402-410, 2003
- 4. Screening for tinea unguium by Dermatophyte Test Strip, Y. Tsunemi, et al., Br. J. Dermatol., 170, 328-331, 2014
- 5. Clinical study of Dermatophyte Test Strip, an immunochromatographic method, to detect tinea unguium dermatophytes, Y. Tsunemi, M. Hiruma, J Dermatol., 43, 1417, 2016

[Símbolos]


	Consultar instrucciones de uso
	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	No reutilizar
	Precaución. Consulte la documentación adjunta
	Mantener alejado de la luz solar
	Límite de temperatura
	Fecha de caducidad
	Suficiente para <n> pruebas

	Referencia en catálogo
	Número de lote
	Fabricante
	Representante autorizado en CE

[Fabricante]

 JNC Corporation
Shin Otemachi Bldg., 2-1, Otemachi 2-Chome, Chiyoda-ku, Tokyo
100-8105, Japan

[Representante autorizado CE]

 Emergo Europe
Prinsessegracht 20, 2514 AP, The Hague, The Netherlands



Patent Number: JP 4117542, JP 4117563, JP 5167488, EP 2009111, US 8962264
IFU DE001, Revisado 03022017, Rev, 1.5