

VITASSAY

Clostridium difficile GDH+Toxin A+B

Test rapide pour la détection qualitative de Clostridium difficile Glutamate Déshydrogénase (GDH) , des toxines A et B dans les selles humaines

IUFR-7715024-67 Ed00 Octobre 2020



Usage Diagnostic *In Vitro* uniquement

UTILISATION

Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative simultanée de Clostridium difficile Glutamate Déshydrogénase (GDH), des toxines A et B dans les selles humaines.

C'est un test de dépistage simple, non invasif et très sensible pour le diagnostic présomptif des infections à Clostridium difficile.

INTRODUCTION

Clostridium difficile est un bacille gram positif anaérobie sporulant à l'origine de différentes diarrhées nosocomiales chez les patients sous antibio-thérapie par l'élaboration de 2 grandes toxines de Clostridium et d'autres facteurs de virulence.

Clostridium difficile provoque un ensemble de symptômes, allant de diarrhées légères à chroniques et est l'agent étiologique de la colite pseudo-membraneuse.

PRINCIPE

Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B est un dosage immunochromatographique qualitatif pour réaliser un diagnostic présomptif des infections à Clostridium difficile.

Zone A: La zone réactive (bande test de la membrane de nitrocellulose) est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre la GDH.

Zone B: La zone réactive (bande test de la membrane de nitrocellulose) est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre les toxines A de Clostridium difficile.

Zone C: La zone réactive (bande test de la membrane de nitrocellulose) est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre les toxines B de Clostridium difficile.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre la GDH (Zone A), les toxines A (Zone B) et/ou les toxines B (Zone C), formant des conjugués. Le mélange se déplace verticalement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif, les antigènes de l'échantillon dilué réagissent avec le complexe conjugué et une bande **rouge** sera visible. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à traverser les membranes et la bande de contrôle apparaît toujours.

La présence de cette bande **verte** (dans la zone de contrôle C) indique qu'un volume suffisant est ajouté; l'écoulement est obtenu et sert de témoin interne pour les réactifs.

PRECAUTIONS

- Usage professionnel in vitro uniquement.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Ne pas utiliser le test si son sachet est endommagé.
- Les échantillons sont à considérer comme potentiellement dangereux et à gérer de la même manière qu'un agent infectieux. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contaminations. Dispositif à usage unique.
- Les tests doivent être jetés dans un récipient approprié pour réactifs dangereux après leur utilisation.
- Les réactifs contiennent des conservateurs. Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. Consulter la fiche de sécurité, disponible sur demande.
- Les composants fournis dans le kit sont homologués pour une utilisation avec **Vitassay Clostridium GDH+Toxin A+B**. Ne pas utiliser n'importe quel composant d'un autre kit commercial.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire, porter des vêtements protecteurs, utiliser un masque, des lunettes et des gants jetables. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.
- La présence de bandes jaunes dans la zone autour de la bande de contrôle et la zone autour de la bande de test, avant l'utilisation du test, est tout à fait normale et ne risque pas d'engendrer un mauvais fonctionnement du test.

STOCKAGE ET STABILITE

Stocker dans le sachet scellé au réfrigérateur ou à température ambiante (entre 2°C à 30°C).

Le test est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet scellé.

Le test doit rester dans son sachet scellé jusqu'à utilisation.

Ne pas congeler.

MATERIELS

MATERIEL FOURNI	MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none">▪ 10 tests/kit Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B▪ Notice d'utilisation.▪ 10 tubes avec diluent pour échantillon.▪ Vitassay C. difficile GDH positive control swab▪ Vitassay C. difficile Toxin A positive contrôle swab	<ul style="list-style-type: none">▪ Récipient pour échantillon.▪ Gants jetables.▪ Minuteur.▪ Spatule

- Vitassay **C. difficile Toxin B positive control swab**
- Vitassay **écouvillon negative contrôle** + Notice.

PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des récipients propres et secs. Quantité suffisante de matières fécales : 1 à 2g ou mL pour les échantillons liquides.

Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (entre 2°C et 8°C) pendant 1 à 2 jours avant le test. Pour une conservation plus longue, de 1 an maximum, l'échantillon doit être congelé à -20°C. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant le test.

Homogénéiser l'échantillon de selle au mieux possible avant sa préparation.

PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON

1. Enlever le bouchon du flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon (figure 1) et utiliser la cuillère pour recueillir la quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, insérer la cuillère dans 4 zones différentes de l'échantillon de selle (figure 2), enlever tout excès d'échantillon avec une spatule (figure 3), et remettre la cuillère dans le flacon pour une dilution de l'échantillon (figure 4). Pour les selles liquides, prendre une pleine cuillère de l'échantillon (figure 3) et l'ajouter le flacon



Flacon pour la dilution de l'échantillon

pour la dilution de l'échantillon.

2. Fermer le flacon de dilution de l'échantillon fermement et l'agiter pour diluer et mélanger l'échantillon avec le diluant (figure 4).



Insérer la cuillère dans 4 zones différentes de la selle

Supprimer l'excès d'échantillon avec une spatule.
Échantillon liquide : cuillère pleine

Déposer l'échantillon, refermer puis agiter.

PROCEURE

Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant revenir à température ambiante (entre 15°C et 30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir les sachets jusqu'à la réalisation du test.

1. Agiter le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B** de sa pochette protectrice juste avant son utilisation (figure 5).
3. Prendre le flacon de dilution de l'échantillon contenant l'échantillon dilué (figure 6), le placer dans le tube multiplexe (figure 7). Visser fermement le bouchon du tube multiplexe (figure 8). Le bas du flacon de dilution de l'échantillon va rompre et la solution diluant+échantillon atteint la zone d'échantillonnage des bandes (figure 9).
4. Laisser le tube multiplexe à la verticale sur une surface plate et lire les résultats à 10 minutes. Ne pas lire les résultats au delà de 10 minutes.
5. Si le test ne fonctionne pas en raison de particules solides (l'échantillon n'est pas homogénéisé), le phénomène de migration peut être s'arrêter sur une ou plusieurs bandes. Dans ce cas, taper le bas du tube multiplexe sur une surface dure pour permettre à la migration de reprendre.



Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B

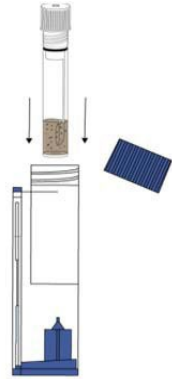
6



Flacon contenant l'échantillon dilué



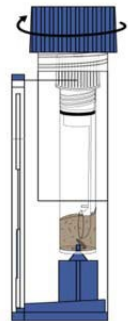
7



Introduire le flacon avec l'échantillon dilué dans le tube multiplexe



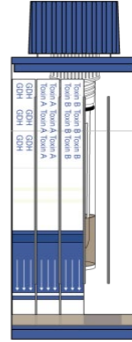
8



Fermer le bouchon, le fond du flacon de dilution casse



9



La réaction a lieu. Lire les résultats à 10



INTERPRETATION DES RESULTATS

Bande A: GDH, Bande B: Toxin A et Bande C: Toxin B

Diagramme	NÉGATIF	POSITIF
	Une seule bande verte dans la zone de contrôle (C) sur les trois zones (A, B, et C).	Absence de GDH, de Toxine A et de Toxine B.
	En plus de la bande verte (bande de contrôle C), présence d'une bande rouge sur chaque zone (ligne de test T).	Présence de GDH, Toxine A et Toxine B.
	Zone C (Toxine B) → bande verte	Présence de GDH et Toxine A. Infection causée par Clostridium difficile.
	Zone A (GDH) → bandes verte/rouge. Zone B (Toxine A) bandes verte/rouge.	

Diagramme	NÉGATIF	POSITIF
	Zone B (Toxine A) → bande verte	Présence de GDH et Toxine B. Infection causée par Clostridium difficile.
	Zone A (GDH) → bande verte	Présence de Toxine A et Toxine B. Infection causée par Clostridium difficile. Si ce résultat est obtenu, le test doit être répété en utilisant un échantillon fraîchement obtenu. Si le résultat obtenu est une nouvelle fois positif pour Toxines A et B et négatif pour GDH, l'échantillon doit être considéré positif pour les Toxines A et B.
	Zone B (Toxine A) → bande verte. Zone C (Toxine B) → bande verte.	Présence de GDH. Infection causée par Clostridium difficile.
	Zone A (GDH) → bandes verte/rouge.	
	Zone A (GDH) → bande verte. Zone C (Toxine B) → bande verte.	Présence de Toxine A. Infection causée par Clostridium difficile. Si ce résultat est obtenu, le test doit être répété en utilisant un échantillon fraîchement obtenu. Si le résultat obtenu est une nouvelle fois positif pour Toxine A et négatif pour GDH, l'échantillon doit être considéré positif pour Toxine A.

	NÉGATIF	Présence de Toxine B. Infection causée par Clostridium difficile. Si ce résultat est obtenu, le test doit être répété en utilisant un échantillon fraîchement obtenu. Si le résultat obtenu est une nouvelle fois positif pour Toxine B et négatif pour GDH, l'échantillon doit être considéré positif pour Toxine B.
	Zone A (GDH) → bande verte . Zone B (Toxine A) → bande verte .	
	POSITIF	
	Zone C (Toxine B) → bandes verte/rouge	
Tout autre type de résultats	Les résultats des zones A, B, ou C sont non valides, nous vous recommandons de répéter l'analyse avec un autre test en utilisant le même échantillon.	

Un très faible pourcentage d'échantillons peut se révéler négatif pour la GDH mais positif pour les toxines.

Remarque : L'intensité de la ligne de test de couleur **rouge** dans la zone de la ligne de résultat (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes dans l'échantillon.

Les résultats positifs détaillés dans la table ci-dessus doivent être suivis d'un test de confirmation additionnel.

Résultats non valides: L'absence totale d'une des bandes de contrôle colorées (**vert**) est l'indicateur d'un test non valide, que les différentes bandes de test **rouges** soient visibles ou non. Une mauvaise procédure technique ou une détérioration des réactifs sont les principales causes d'une absence de bande de contrôle. Relire la procédure et répéter l'analyse avec un nouveau test. Si les problèmes persistent, cesser d'utiliser le kit et contacter votre distributeur.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Des contrôles internes sont inclus dans le kit **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B**. Les bandes **vertes** qui apparaissent dans la fenêtre de résultats sont des contrôles internes qui confirment le bon fonctionnement technique du test et que le volume d'échantillon déposé est suffisant.

LIMITES

- **Vitassay Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B** doit être effectué dans les 2 heures après ouverture de la pochette scellée.
- Un excès d'échantillon de selles peut être à l'origine de résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluer l'échantillon avec le diluant et refaire le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration en antigènes.

- L'utilisation d'échantillons autres que des échantillons humains n'a pas été établie.
- La qualité du test **Vitassay Clostridium difficile GDH+ Toxin A+B** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles corrects doivent être obtenus.
- Des résultats positifs déterminent la présence de la **GDH et des Toxines A et B** de Clostridium difficile dans les selles. Un résultat positif devrait être complété par des techniques de laboratoire supplémentaires (culture toxigénique) pour déterminer la souche. La décision d'une infection confirmée doit être prise uniquement par un médecin après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit reposer sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Un résultat négatif n'a pas de valeur négative définitive. Il est possible que la concentration d'antigènes soit inférieure à la valeur limite de détection. Si la situation ou les symptômes persistent, procéder à une détermination de Clostridium difficile sur un échantillon d'une culture enrichie.
- Les échantillons de selles sanglantes et/ou glaireuses peuvent provoquer des réactions non spécifiques dans le test. Ces types d'échantillons dont le résultat est positif doivent être suivis par d'autres techniques de diagnostic pour confirmer le résultat.

VALEURS ATTENDUES

Clostridium difficile est associé à 95 à 100% des cas de colite pseudo-membraneuse, 60 à 75% des cas de colites après la prise d'antibiotiques et 35% des cas de diarrhées après la prise d'antibiotiques. Les autres causes de diarrhées post-antibiotiques sont fortement méconnues.

PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée à partir d'échantillons de selles, en comparant le test **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** avec les critères d'évaluation.

Critères d'évaluation pour la bandelette : GDH

Évaluation en parallèle de deux tests rapides (Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B) de la GDH en bandelette par rapport à un test rapide du concurrent. Les résultats discordants ont été confirmés par le qPCR.

Critères d'évaluation des bandes : Toxine A et Toxine B.

Évaluation en parallèle de deux tests rapides (Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B) de la Toxine A et Toxine B en bandelette par rapport à un test rapide du concurrent. Les résultats discordants ont été confirmés par le qPCR.

Les résultats sont les suivants :

GDH

		Critères d'évaluation (GDH)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B	Positif	51	0	51
	Négatif	0	75	75
	Total	51	75	126
GDH				

Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxin A + B (GDH) vs critères d'évaluation (GDH)		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance à 95%
Sensibilité	100.0%	93.0-100.0%
Spécificité	100.0%	95.2-100.0%
VPP	100.0%	93.0-100.0%
VPN	100.0%	95.2-100.0%

Toxine A

		Critères d'évaluation (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B	Positif	28	0	28
	Négatif	1	97	98
	Total	29	97	126
Toxina A				

Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B (Toxine A) versus critères d'évaluation (Toxine A + B)		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance à 95%
Sensibilité	96.6%	92.2-99.9%
Spécificité	100.0%	96.2-100.0%
VPP	100.0%	87.7-100.0%
VPN	99.0%	94.4-100.0%

Toxine B

		Critères d'évaluation (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B	Positif	36	1	37
	Négatif	0	89	89
	Total	36	90	126
Toxina B				

Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxin A+B (Toxine A) versus critères d'évaluation (Toxine A + B)		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance à 95%
Sensibilité	100.0%	90.3-100.0%
Spécificité	98.9%	94.0-100.0%
VPP	97.3%	85.8-99.9%
VPN	100.0%	95.9-100.0%

Les résultats ont montré que le test Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B présente une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter la glutamate déshydrogénase (GDH), la toxine A et la toxine B de Clostridium difficile.

Réactions croisées

Aucune réaction croisée n'a été détectée avec d'autres agents pathogènes gastro-intestinaux, d'autres micro-organismes, substances et/ou marqueurs fécaux qui sont occasionnellement présents dans les matières fécales.

<i>Adenovirus</i>	<i>Giardia</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Calprotectina humana</i>	<i>Hemoglobina bovina</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Hemoglobina de cerdo</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hemoglobina humana</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i> antigen GDH (strips: Toxin A and Toxin B)	<i>Lactoferrina humana</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin A (strips: GDH and Toxin B)	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxin B (strips: GDH and Toxin A)	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Norovirus GI</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Norovirus GII</i>	<i>Transferrina humana</i>
<i>Escherichia coli O111</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:3</i>
<i>Escherichia coli O26</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:9</i>
<i>Escherichia coli O157</i>		










REFERENCES

1. KAREN C. CARROLL and JOHN G. BARLETT. "Biology of Clostridium difficile: Implications for Epidemiology and Diagnosis". Annual Review of Microbiology. Vol. 65. Oct. 2011. Pp. 501-521.
2. KERRIE EASTWOOD, PATRICK ELSE, ANDRÉ CHARLETT and MARIA WILCOX. "Comparison of nine commercially available Clostridium difficile toxin detection assays, a real-time PCR assay for C. difficile tcdB, and a Glutamate dehydrogenase detection assay to cytotoxin testing and cytotoxigenic culture methods".

Journal of Clinical Microbiology. Vol.47, Nº. 10, Oct. 2009, p. 3211-3217.

3. M. W. D. WREN, M. SIVAPALAN, R. KINSON and N. P. SHETTY. "Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. An evaluation of test for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory". British Journal of Biomedical Science. Vol. 66 (1), 2009 pp. 1-5.

SYMBOLES IVD DES COMPOSANTS ET REACTIFS

 IVD	Dispositif de diagnostic in vitro		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limites de température
	Expire le		Fabricant
 LOT	N° de lot		Quantité suffisante pour <n> tests
DIL	Diluant d'échantillon	 REF	Code produit



