

# VITASSAY

## Clostridium difficile antigen(GDH)

Test rapide pour la détection qualitative du Clostridium difficile Glutamate Dehydrogenase (GDH) dans les selles humaines.

IUE-7355022-67 Ed01 Avril 2020



### Usage Diagnostic In Vitro uniquement.

#### UTILISATION

**Vitassay Clostridium difficile antigen GDH** est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative du *Clostridium difficile* *Glutamato Dehydrogenasa* (GDH) dans les selles humaines. C'est un test de dépistage simple, non invasif, et très sensible pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile*.

#### INTRODUCTION

*Clostridium difficile* est un bacille anaérobie, formant des spores, Gram-positif qui cause un spectre de colite associée aux antibiotiques par l'élaboration de deux toxines *clostridiques* importantes et autres facteurs de virulence.

*Clostridium difficile* est la cause d'une gamme de symptômes du plus doux à la diarrhée grave et est l'agent étiologique de colite pseudomembraneuse

#### PRINCIPE

**Vitassay Clostridium difficile antigen GDH** est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection de *Clostridium difficile* *Glutamate Dehydrogenase* dans les échantillons de selles humaines.

La zone réactive (ligne test de la membrane de nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre le GDH.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre le GDH, formant des conjugués. Le mélange se déplace latéralement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif, les anticorps présents sur la membrane (ligne test capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge** sera visible. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à traverser les membranes et la ligne de contrôle **verte** apparaît toujours.

La présence de cette ligne **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.
- 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.

Dispositif à usage unique.

- Les composants fournis dans le kit sont homologués pour une utilisation avec **Vitassay Clostridium difficile antigen GDH**. 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 et 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
<b>25 tests/kit Vitassay Clostridium difficile antigen GDH</b> Notice d'utilisation. <b>25</b> tubes avec diluent pour échantillon 1 écouvillon Vitassay C. difficile GDH contrôle positif. 1 écouvillon Vitassay contrôle négatif	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Récipient pour échantillon.</li><li>▪ Gants jetables.</li><li>▪ Minuteur.</li></ul>

#### PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

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

Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (Entre 2°C et 8°C) pendant 7 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. S'assurer que le volume minimal nécessaire est décongelée car les cycles de congélation et de décongélation ne sont pas recommandés. Homogénéiser les échantillons de selles aussi soigneusement que possible avant la préparation.

#### PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON

1. Enlever le bouchon du flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon (figure 1).
2. Utiliser la tige pour recueillir la quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, insérer la tige dans 4 zones différentes de l'échantillon de selles (Figure 2), et l'ajouter dans le flacon avec le diluant de dilution de l'échantillon. Pour les selles liquides, déposer 125µL d'échantillon à la micropipette dans le flacon

de dilution de l'échantillon.

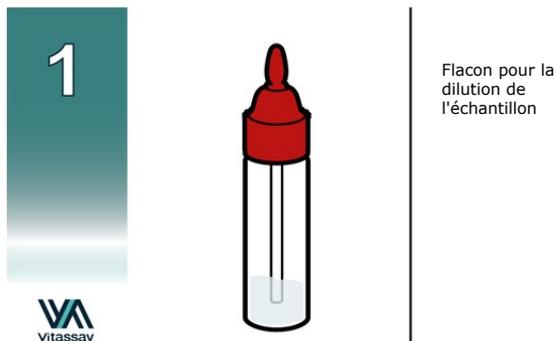
3. Fermer le flacon avec le diluant et l'échantillon de selles. Agiter vigoureusement le flacon afin d'assurer une bonne homogénéité de l'échantillon (figure 3).

## PROCEDURE

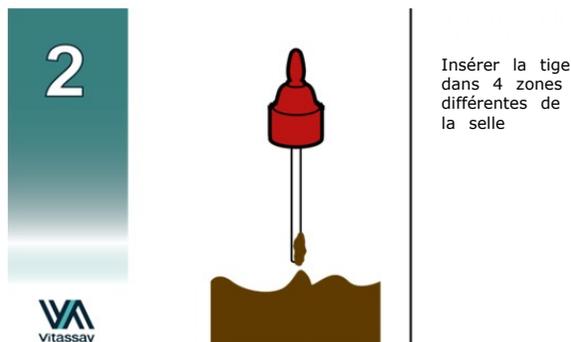
Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant revenir à température ambiante (Entre 15°C et 30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir les sachets jusqu'à la réalisation du test.

1. Agiter le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay Clostridium difficile antigen GDH** de sa pochette protectrice juste avant son utilisation.
3. Prendre le flacon contenant l'échantillon dilué, couper l'extrémité du bouchon (figure 4) et déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre S (figure 5).
4. Lire les résultats à **10 minutes**. Ne pas lire les résultats au delà de 10 minutes.

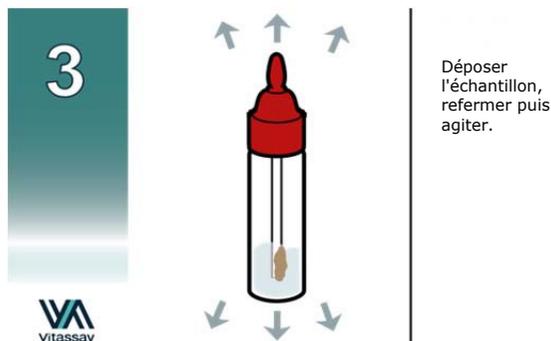
Si le test ne fonctionne pas en raison de particules solides, agiter à l'aide de la tige l'échantillon ajouté dans la fenêtre circulaire. Si ça ne fonctionne pas, déposer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide migre dans la zone réactionnelle.



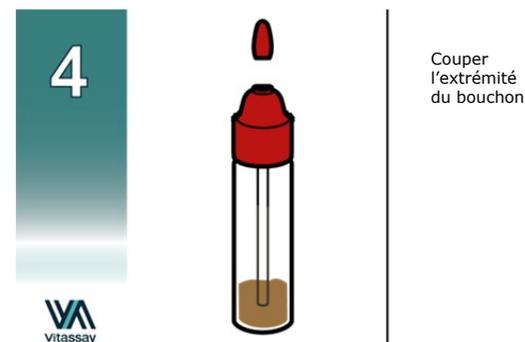
Flacon pour la dilution de l'échantillon



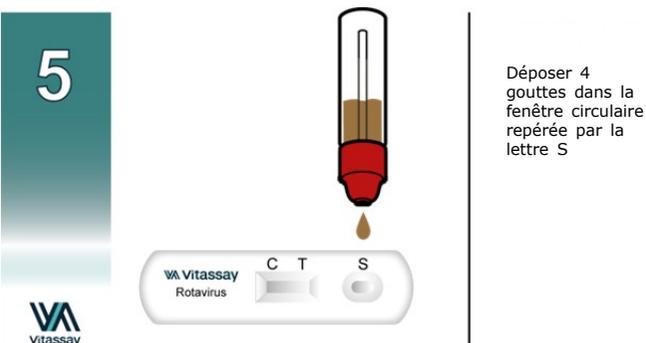
Insérer la tige dans 4 zones différentes de la selle



Déposer l'échantillon, refermer puis agiter.



Couper l'extrémité du bouchon



Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre S

## INTERPRETATION DES RESULTATS

NEGATIF		Absence de l'antigène GDH de Clostridium difficile. Aucune infection causée par le Clostridium difficile.
	Une seule ligne <b>verte</b> dans la zone de contrôle ( <b>C</b> ).	
POSITIF		Présence de l'antigène GDH de Clostridium difficile. Diarrhée causée par le C.Difficile.
	En plus de la ligne <b>verte</b> (ligne de contrôle <b>C</b> ), présence d'une ligne <b>rouge</b> (ligne de test <b>T</b> ).	
AUTRES RESULTATS		Résultat non valide, il est recommandé de répéter le test à l'aide de l'échantillon avec un autre test. Procédure technique incorrecte ou détérioration des réactifs sont habituellement les principales raisons de la défaillance de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persiste, cesser d'utiliser le kit et contacter le distributeur local.

**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.

## CONTRÔLE DE QUALITE

Un contrôle interne est inclus dans le kit **Vitassay Clostridium Difficile Antigen GDH**. La ligne **verte** qui apparaît dans la fenêtre de résultats est un contrôle interne qui confirme le bon fonctionnement technique du test et que le volume d'échantillon déposé est suffisant.

## LIMITES

- **Vitassay Clostridium Difficile antigen GDH** 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 antigen GDH** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles corrects doivent être obtenus.
  - Des résultats positifs déterminent la présence de l'antigène GDH de Clostridium difficile dans les selles. Un résultat positif devrait être complété par des techniques de laboratoire supplémentaires (méthodes biochimiques ou microscopie) pour confirmer les résultats. 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 à partir d'un milieu d'enrichissement. 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 95-100 % des cas de colite pseudomembraneuse, 60-75 % des cas de colites associées aux antibiotiques et 35 % des cas de diarrhées associés aux antibiotiques. Les autres causes de diarrhées associées aux antibiotiques sont en grande partie inconnues.

#### PERFORMANCE

##### Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée en comparant le test **Vitassay Clostridium difficile antigen GDH** avec un critère d'évaluation. Ce critère d'évaluation consiste en l'évaluation en parallèle de deux tests rapides (Vitassay Clostridium difficile antigen GDH) par rapport à d'autres formes de tests rapides concurrents. Les résultats divergents ont été confirmés par la technique de RCPQ.

Les résultats sont les suivants :

Vitassay Clostridium difficile antigène GDH		Critère d'évaluation		
		Positif	Négatif	Total
		Positif	51	0
Négatif	0	75	75	
Total	51	75	126	

Vitassay Clostridium difficile antigen GDH versus critère d'évaluation		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance 95 %
Sensibilité	100 %	93 - 100 %
Spécificité	100 %	95,2 - 100 %
PPV	100 %	93 - 100 %
NPV	100,5 %	95,2 - 100 %

Les résultats ont montré que le test itassay Clostridium difficile GDH a une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter la glutamate déshydrogénase (GDH) de *Clostridium difficile*.

#### Réactions croisées

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

<i>Adenovirus</i>	<i>Giardia</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella paratyphi A</i>
<i>Bovine Haemoglobin</i>	<i>Human Calprotectin</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Human Haemoglobin</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Human Lactoferrin</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium difficile Toxin A</i>	<i>Human Transferrin</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile Toxin B</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Norovirus GI</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Escherichia coli O111</i>	<i>Norovirus GII</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Escherichia coli O26</i>	<i>Pig haemoglobin</i>	<i>Yersinia Enterocolitica O:3</i>
<i>Escherichia coli O157</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Yersinia Enterocolitica O:9</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, N°. 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



