

VITASSAY

Clostridium difficile Toxin A+B

Test rapide pour la détection qualitative de Clostridium des toxines A et B de Clostridium difficile dans les selles humaines.

IUE-7455023-67 Ed01 Avril 2020



Usage diagnostic in vitro uniquement.

UTILISATION

Vitassay Clostridium difficile Toxin A+B est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative simultanée des toxines A et B de Clostridium difficile 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 une tige anaérobie, formant des spores, de Gram positif qui provoque un spectre de colite associée aux antibiotiques grâce à l'élaboration de deux grandes toxines de Clostridia et d'autres facteurs de virulence. Clostridium difficile peut provoquer une série de symptômes de diarrhée légère à sévère et est l'agent étiologique de colite pseudomembraneuse.

PRINCIPE

Vitassay Clostridium difficile Toxin A+B est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection des toxines A et B de Clostridium difficile dans les selles humaines.

Zone A : La bande test de la membrane nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre la toxine A.

Zone B : La bande test de la membrane nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre la toxine B.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre les toxines A (Zone A) et les toxines B (Zone B), formant des conjugués. Le mélange se déplace verticalement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif à la toxine A, les anticorps présents sur la membrane (bande test) réagissent avec le complexe conjugué et une bande **rouge** sera visible sur la zone A, et si l'échantillon est positif à la toxine B, les anticorps présents sur la membrane (bande test) réagissent avec le complexe conjugué et une bande **rouge** sera visible sur la zone B. Bien que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à se déplacer à travers les membranes et la bande **verte** apparaît toujours (pour les deux zones).

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. Eviter 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 le **Vitassay Clostridium difficile 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 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 jusqu'à son utilisation.

Ne pas congeler.

MATERIELS

MATERIEL FOURNI	MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none">• 25 tests/kit Vitassay Clostridium difficile Toxin A+B• Notice d'utilisation.• 25 tubes avec diluant pour échantillon.• Écouvillon de contrôle positif de la Toxine A de C. difficile.• Écouvillon de contrôle positif de la Toxine B de C. difficile.• 1 contrôle négatif Vitassay	<ul style="list-style-type: none">• Récipient pour échantillon.• Gants jetables.• Minuteur.

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 72 heures 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.

Assurez-vous que seul le montant nécessaire est décongelé car les cycles de congélation et de dégivrage ne sont pas recommandés. Homogénéiser les échantillons de selles aussi complètement que possible avant la préparation.

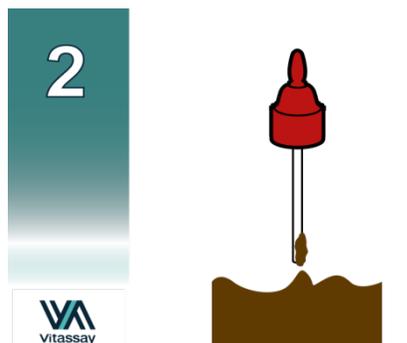
PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON

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 selle (Figure 2) et ajouter le dans le flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon. Pour les selles liquides, prélever 125 µL d'échantillon en utilisant une micropipette et ajouter le dans le flacon avec le diluant pour la dilution de l'échantillon.
3. Fermer le flacon de dilution de l'échantillon fermement et agiter le pour diluer et mélanger l'échantillon avec le diluant (figure 3).



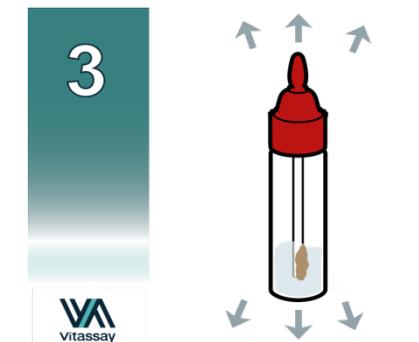
Texto descriptivo de la imagen

Flacon pour dilution de l'échantillon.



Texto descriptivo de la imagen

Insérer la tige dans 4 zones différentes de la selle .



Texto descriptivo de la imagen

Mettre l'échantillon dans le falcon, fermer le bouchon et mélanger.

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.

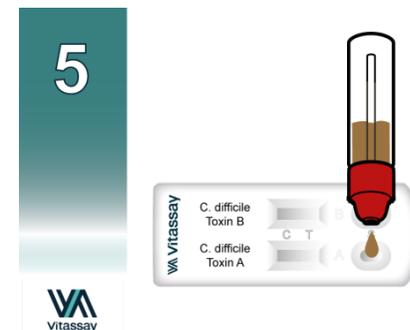
1. Agiter le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay Clostridium difficile Toxin A+B** de son sachet scellé juste avant son utilisation.
3. Prendre le flacon contenant le diluent, couper la fin du bouchon (figure 4) et déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A - Toxine A (figure 5) et 4 gouttes, en utilisant le même flacon, dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B - Toxine B (figure 6).
4. Lire les résultats à **10 minutes**. Ne pas lire les résultats après plus de 10 minutes.

Si le test ne fonctionne pas en raison de particules solides, mélanger l'échantillon dans la fenêtre d'échantillonnage avec le bâton. Si cela ne fonctionne pas, déposer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide coule dans la zone de réaction



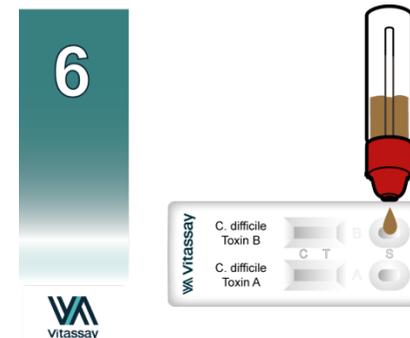
Texto descriptivo de la imagen

Couper l'extrémité du bouchon.



Texto descriptivo de la imagen

Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée par la lettre S sur la bande A - Toxine A.



Texto descriptivo de la imagen

Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre S sur la bande B - Toxine B.

INTERPRETATION DES RESULTATS

RESULTATS	Zone A Toxine A	Zone B Toxine B	INTERPRETATION
	Négatif	Négatif	Absence de toxines A et B causées par Clostridium difficile.
	VERT	VERT	
	Positif	Positif	Présence de toxines A et toxines B de Clostridium difficile. Infection causée par le Clostridium difficile.
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE	
	Positif	Négatif	Présence de toxines A de Clostridium difficile. Infection causée par Clostridium difficile.
	VERT-ROUGE	VERT	

	Négatif	Positif	Présence de toxine B de Clostridium difficile. Infection causée par Clostridium difficile.
	VERT	VERT-ROUGE	
AUTRES RESULTATS			Résultat invalide, nous recommandons de répéter l'analyse en utilisant l'échantillon avec un autre test. Remarque : Les techniques de procédure erronées ou la détérioration des réactifs sont les principales raisons de l'échec de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persistent, arrêtez d'utiliser le kit de test et contactez votre distributeur local.

Remarques : L'intensité de la bande 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.

CONTROLE QUALITE

Des contrôles internes sont inclus dans le kit **Vitassay Clostridium difficile 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 Toxin A+B** doit être effectué dans les 2 heures après ouverture de son sachet scellé.
- 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 bande 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 Toxin A+B** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons corrects doivent être obtenus.
- Des résultats positifs déterminent la présence 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 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 d'une culture enrichie.
- Les échantillons de selles sanglantes et/ou glaireuses peuvent provoquer des réactions non spécifiques lors du 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 pseudomembraneuse, 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 avec des échantillons de selles en comparant la **toxine A+B de Vitassay Clostridium difficile** avec les critères d'évaluation.

Ce critère consiste en l'évaluation en parallèle de deux tests rapides (Vitassay Clostridium difficile Toxin A+B) par rapport à un test rapide du concurrent. Les résultats discordants ont été confirmés par le qPCR

Les résultats sont les suivants :

Toxine A

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

Vitassay Clostridium difficile Toxine A+B (Toxin A) versus critères d'évaluation (Toxine A+B)		
	Valeur moyenne	Intervalle de confiance à 95%
Sensibilité	96,6%	92,2 - 99,9 %
Spécificité	100 %	96,2 - 100 %
VPP	100 %	87,7 - 100 %
VPN	99 %	94,4 - 100 %

Toxine B

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

Vitassay Clostridium difficile Toxine A+B (Toxine B) versus critères d'évaluation (Toxine A+B)		
	Valeur moyenne	Intervalle confiance à 95%
Sensibilité	100 %	90,3 - 100 %
Spécificité	98,9 %	94 - 100 %
VPP	97,3 %	85,8 - 99,9 %
VPN	100 %	95,9 - 100 %

Les résultats ont montré que le test **Vitassay Clostridium difficile Toxine A+B** a une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter la Toxine A et la Toxine B.

Réactions croisées

Aucune réaction croisée n'a été détectée contre d'autres agents pathogènes gastro-intestinaux, d'autres organismes, substances et/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 antigen GDH</i>	<i>Human Transferrin</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile Toxin A (Strip: Toxin B)</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium difficile Toxin B (Strip: Toxin A)</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Norovirus GI</i>	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Norovirus GII</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Escherichia coli O111</i>	<i>Pig Haemoglobin</i>	<i>Yersinia enterocolitica O:3</i>
<i>Escherichia coli O26</i>	<i>Rotavirus</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, 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 températures
	Expire le		Fabricant
LOT	N° de lot		Quantités suffisantes pour <n> test
DIL	Diluant d'échantillon	REF	Code produit

