

Usage Diagnostic *in vitro* uniquement.

#### UTILISATION PRÉVUE

**Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative simultanée de la glutamate déshydrogénase (GDH), des toxines A et B de *Clostridium difficile* dans des échantillons de selles humaines.

Test immunologique simple, non invasif et très sensible permettant de poser un diagnostic présomptif d'infection à *Clostridium difficile*.

#### INTRODUCTION

*Clostridium (Clostridioides) difficile* est un bacille entérotoxigène anaérobie gram-positif identifié comme l'une des principales causes de diarrhée infectieuse liée à un traitement antibiotique (10-15%). Il s'agit d'un problème majeur de santé publique, car il est responsable de vastes épidémies dans les hôpitaux et les maisons de retraite. *C. difficile* est également associé à des taux de mortalité élevés chez les personnes âgées (Marra et al., 2020). Les principaux facteurs de risque des infections à *C. difficile* sont l'âge (>65 ans), l'hospitalisation, l'immunodépression et/ou une infection antérieure (Abt et al., 2016).

*C. difficile* peut être divisé en deux souches principales : non toxigène et toxigène, mais seule cette dernière provoque des maladies chez l'homme. Ces souches toxigènes produisent la toxine B (TcdB) seule ou en combinaison avec la toxine A (TcdA) et la pathogénicité dépend de l'expression de ces deux toxines (Burke et al., 2014). Les toxines sont produites et sécrétées dans le gros intestin lorsque la disponibilité des nutriments est limitée et subissent une endocytose par les cellules épithéliales intestinales. L'activation de ces toxines dans le cytosol produit une nécrose cellulaire et la perte subséquente de l'intégrité de la membrane intestinale. Ce processus conduit à l'exposition de l'hôte aux micro-organismes intestinaux et à l'activation subséquente de la réponse inflammatoire (CDC).

Différentes souches toxigènes ont été signalées comme étant à l'origine d'importantes épidémies dans le monde entier. En 2003, la nouvelle souche NAP1/ribotype 027 a été à l'origine d'épidémies de *C. difficile* aux États-Unis et au Canada. Elle a également été décrite en Europe et au Chili et est associée à une morbidité plus élevée et à des taux de récurrence plus importants. Il est particulièrement intéressant car il présente une mutation dans un gène inhibiteur, ce qui entraîne une augmentation de la production de toxines A et B (McDonald et al., 2005). Dans d'autres régions du monde, comme l'Asie, il est rare de trouver le ribotype 027, alors que le 017 ou le 002 représentent un grand nombre de cas (Burke et al., 2014).

Le traitement repose sur l'administration d'antibiotiques, notamment la vancomycine, la fidaxomicine et le métronidazole/vancomycine. Cependant, les antibiotiques ne sont pas toujours efficaces et le risque de récurrence est de 25 %. Des traitements innovants, comme la FMT (transplantation de microbiote fécal), la thérapie à base d'anticorps et les médicaments à base de microbiote ont fait leur apparition. Deux vaccins sont en cours d'évaluation (Guery et al., 2019).

Les signes d'infection peuvent apparaître après la prise d'antibiotiques ou l'hospitalisation/pendant l'hospitalisation. Les symptômes les plus courants sont une diarrhée sévère, de la fièvre, une sensibilité de l'estomac, une perte d'appétit et des nausées (CDC). Des mesures doivent être prises pour éviter la propagation, telles qu'une bonne hygiène et le fait d'éviter de partager des serviettes ou du linge.

La recherche systématique de *C. difficile* est recommandée en cas de diarrhée dans un environnement de soins de santé ou lorsque les causes habituelles d'infections intestinales ont été écartées.

#### PRINCIPE

**Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** est un test immunochromatographique qualitatif permettant de poser un diagnostic présomptif d'infection à *Clostridium difficile*.

**Bande A** : la zone de la ligne de test de la membrane de nitrocellulose est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre la GDH.

**Bande B** : la zone de la ligne de test de la membrane de nitrocellulose est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre la toxine A de *Clostridium difficile*.

**Bande C** : La zone de la ligne de test de la membrane de nitrocellulose est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre la toxine B de *Clostridium difficile*.

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

La présence d'une ligne **verte** (dans la zone de contrôle (C)) indique que le volume ajouté est suffisant, que le débit est correct et qu'il sert de contrôle interne pour les réactifs.

#### PRÉCAUTIONS

- Réservé à un usage professionnel *in vitro*.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.

# VITASSAY

## Clostridium difficile GDH+Toxine A+B

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

IUE-7715024-67 Ed02 Juin 2023



- Lisez attentivement la notice d'utilisation avant d'utiliser le test.
- N'utilisez pas le kit si l'étiquette scellant le carton extérieur est déchirée ou si les sacs sont ouverts ou endommagés à l'arrivée.
- N'utilisez pas les tests si le matériau déshydratant est manquant ou cassé à l'intérieur de la pochette en aluminium.
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contamination.
- Le matériel exposé aux échantillons doit également être considéré comme potentiellement dangereux et doit être manipulé de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales.
- Ne pas réutiliser. Il s'agit d'un dispositif à usage unique.
- Le matériel usagé doit être éliminé dans un conteneur approprié pour les risques biologiques après le test.
- Les réactifs contiennent un conservateur appelé azoture de sodium (<0,1%). Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses.
- Conformément à la réglementation en vigueur, **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** ne contient pas de substances et/ou de mélanges dangereux ou présents en concentration supérieure aux limites de déclaration. La fiche de données de sécurité est disponible sur demande (non incluse).
- Tous les réactifs inclus dans le kit sont approuvés pour une utilisation avec **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** uniquement. Ne pas mélanger ou utiliser les composants avec d'autres lots de Vitassay. Ne pas utiliser avec des réactifs provenant d'autres kits ou tests commerciaux.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire. Ces pratiques doivent inclure, sans s'y limiter, un équipement de protection individuelle (EPI), tel qu'une blouse de laboratoire, un masque chirurgical ou approprié ou un écran facial, des gants jetables et une protection oculaire. Prendre les précautions nécessaires lors du prélèvement, du transport, du stockage, de la manipulation et de l'élimination des échantillons. Chaque échantillon doit être identifié correctement et sans équivoque afin de garantir la traçabilité des échantillons.
- En cas d'écoulement, nettoyer soigneusement avec un désinfectant approprié.
- Ne pas manger, boire ou fumer sur le lieu de travail.
- La présence de lignes jaunes dans la fenêtre de résultats (zone de la ligne de contrôle et zone de la ligne de test), avant l'utilisation du test, est tout à fait normale et n'implique pas une défaillance dans la fonctionnalité du test.
- L'interprétation visuelle des résultats se fait par des lignes colorées, l'interprétation des résultats doit être faite par un utilisateur professionnel sans problèmes de visualisation et d'interprétation des couleurs.
- Un certificat d'analyse peut être fourni sur demande (non inclus).

## STOCKAGE ET STABILITÉ

La température de stockage des kits doit être comprise entre 2 et 30 °C.

Ne pas congeler.

Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit.

Tous les composants du kit sont à usage unique et doivent rester dans leur emballage d'origine jusqu'à leur utilisation. Le test doit rester dans le sachet scellé jusqu'à son utilisation.

## MATÉRIAUX

MATÉRIEL FOURNI	MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>10 tests Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B</b></li> <li>• Otice d'utilisation.</li> <li>• <b>10</b> flacons avec diluant pour la dilution de l'échantillon.</li> <li>• <b>Vitassay C. difficile GDH</b> Écouvillon de <b>contrôle positif</b></li> <li>• <b>Vitassay C. difficile Toxine A</b> Écouvillon de <b>contrôle positif</b></li> <li>• <b>Vitassay C. difficile Toxine B</b> Écouvillon de <b>contrôle positif</b></li> <li>• Écouvillon de <b>contrôle négatif</b> Vitassay.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Récipient de collecte d'échantillons.</li> <li>• Gants jetables.</li> <li>• Minuterie.</li> <li>• Spatule.</li> </ul>

## PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS

Prélever une quantité suffisante de selles : 1 à 2 g ou mL pour les échantillons liquides. Les échantillons de selles doivent être collectés dans des récipients propres et secs.

S'ils sont traités le lendemain du prélèvement, les échantillons peuvent être conservés à température ambiante. Toutefois, nous recommandons d'effectuer le test immédiatement après le prélèvement de l'échantillon.

Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 7 jours à une température comprise entre 2 et 8°C, et peuvent être congelés à -20°C jusqu'à un an. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant d'être testés.

Veiller à ne décongeler que la quantité nécessaire, les cycles de congélation/décongélation n'étant pas recommandés.

Homogénéiser les échantillons de selles aussi minutieusement que possible avant la préparation.

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1 Retirer le bouchon du flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon (figure 1) et utiliser la cuillère pour prélever une

quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, insérez la cuillère à 4 endroits différents de l'échantillon de selles (figure 2), enlevez tout excès d'échantillon avec une spatule (figure 3) et remplacez le bouchon de la cuillère dans le flacon pour la dilution de l'échantillon (figure 4). Pour les selles liquides, prenez une cuillère de l'échantillon (figure 3) et transférez-la dans le flacon pour la dilution de l'échantillon.

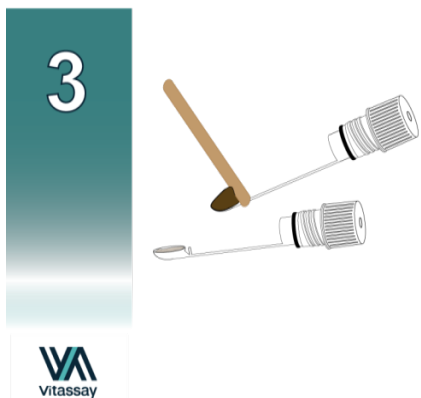
2. fermer hermétiquement le flacon pour la dilution de l'échantillon et l'agiter pour diluer et mélanger l'échantillon avec le diluant (figure 4).



Flacon pour la dilution de l'échantillon

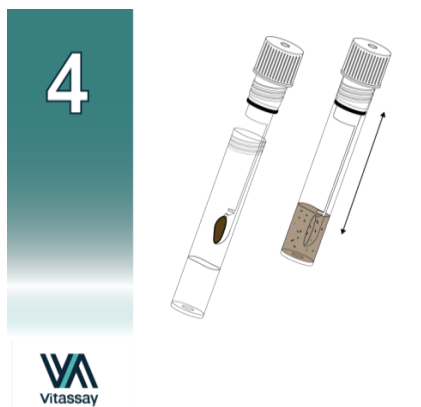


Insérez la cuillère à 4 endroits différents des selles.

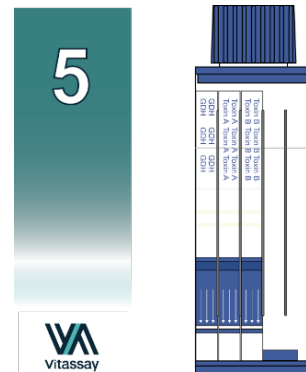


**Test descriptif de l'usage :**

Retirer l'excédent d'échantillon à l'aide d'une spatule. Échantillons liquides : cuillère complète.

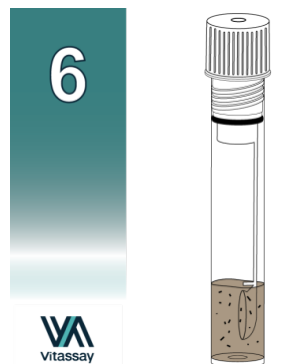


Verser l'échantillon dans le flacon, fermer le couvercle et agiter.



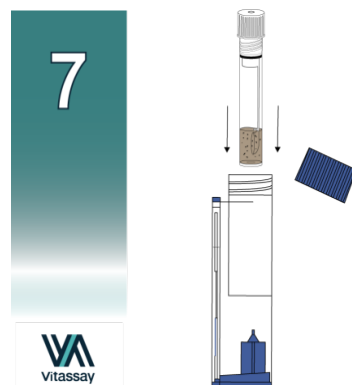
**Test descriptif de l'usage :**

Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B



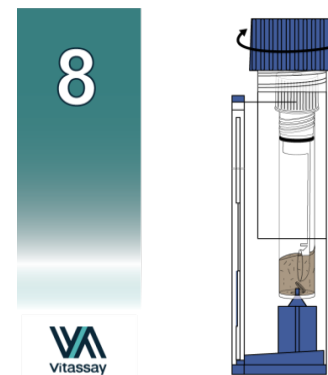
**Test descriptif de l'usage :**

Flacon contenant l'échantillon dilué.

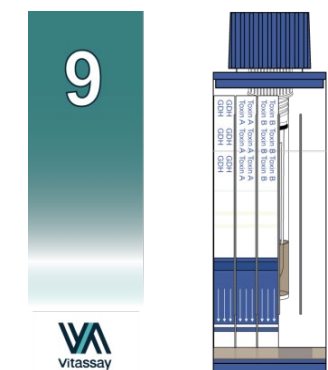


**Test descriptif de l'usage :**

Introduire le flacon contenant l'échantillon dilué dans le multiplex.



Fermer le bouchon et le fond du flacon de diluant se brise.



Une réaction se produit.  
**Lire les résultats après 10 minutes.**

## PROCEDURE

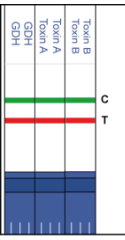
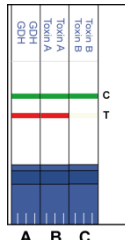
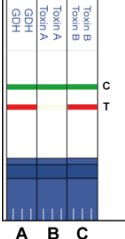
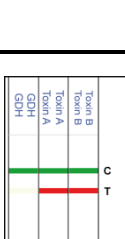
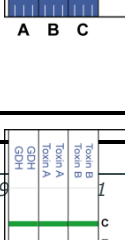
Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant atteindre la température ambiante (15-30°C) avant le test. Ne pas ouvrir les sachets avant la réalisation du test.


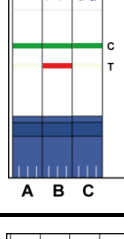
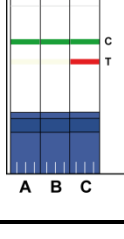

1. Agiter vigoureusement le flacon avec l'échantillon pour obtenir une bonne dilution de l'échantillon.
2. Retirer le **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** de son sachet scellé juste avant de l'utiliser (figure 5).
3. Prendre la cuvette de dilution contenant l'échantillon dilué (figure 6) et la placer dans le tube multiplex (figure 7). Visser fermement le bouchon du tube multiplex (figure 8). Le fond du flacon pour la dilution de l'échantillon se brise et la solution diluant+échantillon atteint la zone d'échantillonnage des bandelettes (figure 9).
4. Laisser le tube multiplex verticalement sur une surface plane et lire les résultats après **10 minutes**. Ne pas lire les résultats après 10 minutes.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Bande A : GDH, bande B : Toxine A et bande C : Toxine B

NÉGATIF		
	GDH	Toxin B
	Toxin A	Toxin B
	GDH	GDH
A	B	C
<p>Une seule ligne <b>verte</b> dans la zone de contrôle (C) dans les trois bandes (A, B et C).</p>		
<p>Absence de GDH, de Toxine A et de Toxine B.</p> <p>Un résultat négatif doit être recoupé avec d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.</p>		

 <p>A B C</p>	<b>POSITIF</b>	<p>Outre la ligne <b>verte</b> (ligne de contrôle C), une ligne <b>rouge</b> apparaît dans chaque bande, la ligne de test (T).</p> <p>Présence de GDH, de toxine A et de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande C (Toxine B) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de GDH et de Toxine A. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>POSITIF</b>	<p>Bande A (GDH) → lignes <b>verte/rouge</b>. Bande B (Toxine A) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p>
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande B (Toxine A) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de GDH et de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>POSITIF</b>	<p>Bande A (GDH) → lignes <b>verte/rouge</b>. Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p>
	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande B (Toxine A) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de toxine A. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande A (GDH) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>POSITIF</b>	<p>Bande B (Toxine A) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine A et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine A.</p>
	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine B.</p>
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande A (GDH) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de toxine A et de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>POSITIF</b>	<p>Bande B (Toxine A) → lignes <b>verte/rouge</b>. Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine A et la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine A et la toxine B.</p>
	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine B.</p>
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande A (GDH) → ligne <b>verte</b>.</p> <p>Présence de toxine A et de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i>.</p>
	<b>POSITIF</b>	<p>Bande B (Toxine A) → lignes <b>verte/rouge</b>. Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine A et la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine A et la toxine B.</p>
	<b>NÉGATIF</b>	<p>Bande C (Toxine B) → lignes <b>verte/rouge</b>.</p> <p>Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine B.</p>

 <p>A B C</p>	<p>Bande B (Toxine A)→ ligne verte.</p> <p>Bande C (Toxine B)→ ligne verte.</p>	Présence de GDH. Possibilité d'infection par <i>C. difficile</i> .
	<b>POSITIF</b>	
	<p>Bande A (GDH)→ lignes vertes/rouges.</p>	
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	Présence de toxine A. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i> .
	<p>Bande A (GDH)→ ligne verte.</p> <p>Bande C (Toxine B)→ ligne verte.</p>	Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine A et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine A.
	<b>POSITIF</b>	
<p>Bande B (Toxine A)→ lignes vertes/rouges.</p>		
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	Présence de toxine B. Possibilité d'infection à <i>C. difficile</i> .
	<p>Bande A (GDH)→ ligne verte.</p> <p>Bande B (Toxine A)→ ligne verte.</p>	Si ce résultat apparaît, il faut répéter le test en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat est à nouveau positif pour la toxine B et négatif pour la GDH, l'échantillon doit être considéré comme positif pour la toxine B.
	<b>POSITIF</b>	
<p>Bande C (Toxine B)→ lignes verte/rouge.</p>		
 <p>A B C</p>	<b>NÉGATIF</b>	
	<b>POSITIF</b>	
	<b>NÉGATIF</b>	
Autres résultats	En cas de résultats non valides (A, B ou C), il est recommandé de répéter le test en utilisant le même échantillon avec un autre test.	

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

**Remarques :** 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 le tableau ci-dessus doivent être suivis de procédures diagnostiques de confirmation supplémentaires.

**Résultats non valables :** L'absence totale de lignes de contrôle colorées (**verte**) indique un résultat non valide, indépendamment de l'apparition ou non des lignes de test (**rouge**). Des techniques procédurales erronées ou la détérioration des réactifs sont les principales raisons de l'absence de lignes de contrôle. Réviser la

procédure et répétez le test avec un nouveau test. Si le problème persiste, cessez d'utiliser le kit et contactez votre distributeur local. Si les résultats sont lus plus de 10 minutes après l'ajout de l'échantillon, ils sont considérés comme non valables.

## LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Des contrôles de procédure internes sont inclus dans le **Vitassay GDH+Toxine A+B**. Les lignes **vertes** apparaissant dans la fenêtre de résultats sont des contrôles internes, qui confirment un volume d'échantillon suffisant et une technique de procédure correcte.

## LIMITES

- Le test **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** doit être effectué dans les 2 heures suivant l'ouverture du sachet scellé.
- Un excès d'échantillon de selles peut entraîner des résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluez l'échantillon avec le diluant et recommencez le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration des antigènes.
- L'utilisation d'autres échantillons que les échantillons fécaux humains n'a pas été établie.
- La qualité de **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** dépend de la qualité de l'échantillon ; des échantillons fécaux appropriés doivent être obtenus.
- Les résultats positifs déterminent la présence de GDH, de toxine A et/ou de toxine B de *Clostridium difficile* dans les échantillons fécaux. Un résultat positif doit être suivi par des techniques de laboratoire supplémentaires (culture toxigénique) afin de déterminer la souche. Une infection confirmée ne doit être établie par un médecin qu'après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit être basée sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Les résultats négatifs ne doivent pas être considérés comme concluants ; il est possible que la concentration d'antigène soit inférieure à la valeur limite de détection. Si les symptômes ou la situation persistent, une détermination de *Clostridium difficile* doit être effectuée sur un échantillon provenant d'une culture d'enrichissement.
- Les échantillons de selles sanglantes et/ou mucineuses peuvent provoquer des réactions non spécifiques lors du test. Ces échantillons positifs doivent être suivis par d'autres techniques de diagnostic pour confirmer le résultat.
- Ce test est un outil de dépistage. Le diagnostic final doit être confirmé par un médecin après une évaluation approfondie des antécédents cliniques et des tests de confirmation supplémentaires.

## VALEURS ATTENDUES

*Clostridium difficile* est associé à 95-100% des cas de colite pseudomembraneuse, 60-75% des cas de colite associée aux antibiotiques et 35% des cas de diarrhée associée aux antibiotiques. Les autres causes de diarrhée associée aux antibiotiques sont largement inconnues.

Selon l'ECDC, en 2016-2017, 72,0 % des cas d'ICD (infection à *C. difficile*) ayant fait l'objet de données basées sur des cas étaient âgés de plus de 64 ans et la majorité (56,4 %) étaient des femmes. Plus de la moitié (n=3 446/5 863 ; 58,8%) des cas d'ICD avaient eu un contact avec des soins de santé au cours des trois mois précédant l'admission actuelle aux soins de santé, dont la grande majorité (n=2 804/3 446 ; 81,4%) avait eu un contact avec un hôpital. Un nombre plus faible de personnes ont été en contact avec un établissement de soins de longue durée (n=431 ; 12,5 %). On estime à 189 526 le nombre de cas d'ICD associées aux soins (ICS) (intervalle de confiance cumulatif à 95 % (IC 95 %) : 105 154-340 978) dans les pays/administrations de l'UE/EEE chaque année en 2016-2017. En 2016-2017, la densité d'incidence brute de l'ICD était de 3,48 cas pour 10000 patients/jour. Cette densité était plus élevée dans les hôpitaux de soins tertiaires (3,87 cas pour 10 000 patients/jour) que dans les hôpitaux de soins secondaires ou primaires (3,46 et 2,28 cas pour 10000 patients/jour, respectivement).

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Deux évaluations rétrospectives ont été réalisées à partir d'échantillons de selles, en comparant les résultats obtenus par **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B** aux résultats obtenus avec des tests commerciaux basés sur la technique immunochromatographique, considérés comme des méthodes de référence.

Dans une première étude, un total de 126 échantillons provenant de patients atteints d'une infection à *C. difficile* ont été comparés. Les résultats sont présentés ci-dessous :

### GDH

		Méthode de référence (GDH)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B	Positif	51	0	51
	Négatif	0	75	75
	Total	51	75	126

Tableau 1. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH+ Toxine A + B (GDH) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.

Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (GDH) vs Méthode de référence (GDH)		
	Valeur	IC 95%
Sensibilité	100%	93-100%
Spécificité	100%	95,2-100%
PPV	100%	93-100%
NVP	100%	95,2-100%

Tableau 2. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH +Toxine A + B (GDH) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

### Toxine A

		Méthode de référence (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B	Positif	28	0	28
	Négatif	1	97	98
	Total	29	97	126

Tableau 3. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine A) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.

Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine A) vs Méthode de référence (Toxine A+B)		
	Valeur	IC 95%
Sensibilité	96,6%	92,2-99,9%
Spécificité	100%	96,2-100%
VPP	100%	87,7-100%
VPN	99%	94,4-100%

Tableau 4. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine A) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

### Toxine B

		Méthode de référence (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B	Positif	36	1	37
	Négatif	0	89	89
	Total	36	90	126

Tableau 5. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine B) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.

Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine B) vs Méthode de référence (Toxine A+B)		
	95 % IC	IC 95%
Sensibilité	100%	90,3-100%
Spécificité	98,9%	94-100%
PPV	97,3%	85,8-99,9%
NVP	100%	95,9-100%

Tableau 6. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine B) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

Dans une deuxième évaluation, plus récente, 250 échantillons cliniques congelés (selles) provenant de patients soupçonnés d'être infectés par *C. difficile* ont été évalués. Ce test a permis d'évaluer les performances du kit Vitassay par rapport à un autre kit commercial CE-IVD et les divergences ont été résolues à l'aide d'une méthode d'amplification de l'acide nucléique certifiée.

### GDH

		Méthode de référence (GDH)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A+B	Positif	86	1	87
	Négatif	3	160	163
	Total	89	161	250

Tableau 7. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (GDH) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.

Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (GDH) vs Méthode de référence (GDH)		
	Valeur	IC 95%
Sensibilité	96,6%	90,5-99,3%
Spécificité	99,4%	96,6-100%
PPV	98,9%	93-100%
NVP	98,2%	95,2-100%

Tableau 8. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH +Toxine A + B (GDH) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

### Toxine A

		Méthode de référence (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Toxine A+B de Clostridium difficile	Positif	51	0	51
	Négatif	1	198	199
	Total	52	198	250

Tableau 9. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine A) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.



Vitassay Clostridium difficile Toxine A + B (Toxine A) vs Méthode de référence (Toxine A+B)		
	Valeur	IC 95%
Sensibilité	98,1%	89,7-100%
Spécificité	100%	98,2-100%
PPV	100%	93-100%
NVP	99,5%	97,2-100%

Tableau 10. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine A) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

### Toxine B

		Méthode de référence (Toxine A+B)		
		Positif	Négatif	Total
Vitassay Toxine A+B de Clostridium difficile	Positif	40	0	40
	Négatif	4	206	210
	Total	44	206	250

Tableau 11. Résultats du Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine B) comparés à ceux d'un kit commercial CE-IVD.

Vitassay Clostridium difficile Toxine A + B (Toxine B) vs Méthode de référence (Toxine A+B)		
	Valeur	IC 95%
Sensibilité	90,9%	78,3-97,5%
Spécificité	100%	98,2-100%
PPV	100%	91,2-100%
NVP	98,1%	95,2-99,9%

Tableau 12. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du kit Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B (Toxine B) par rapport à un kit commercial CE-IVD.

En bref, **Vitassay Clostridium difficile GDH + Toxine A + B** a été testé sur un total de 376 échantillons fécaux cliniques. L'analyse **groupée** des deux études montre une **sensibilité** clinique globale de 0,97 (0,93-0,99) pour la GDH, de 0,99 (0,97-0,99) pour la toxine A et de 0,95 (0,87-0,98) pour la toxine B. En revanche, la **spécificité** clinique globale calculée pour la GDH est de 0,99 (0,97-1), la toxine A de 1 (0,98-1) et la toxine B de 0,99 (0,98-1).

Dans l'ensemble, les résultats montrent que **Vitassay Clostridium difficile GDH+ Toxine A + B** a une sensibilité et une spécificité élevées pour la détection de l'enzyme glutamate déshydrogénase (GDH) et des toxines A et B de *Clostridium difficile*.

### Sensibilité analytique

La limite de détection (LoD) de Vitassay **Clostridium difficile GDH +Toxine A+B** est de 0,39 ng/mL pour l'antigène de la glutamate déshydrogénase (GDH) de *C. difficile*, de 2 ng/mL pour la toxine A

de *Clostridium difficile* et de 3,12 ng/mL pour la toxine B. Il convient de noter qu'aucun étalon de référence général n'a été approuvé ; la LD a été déterminée en utilisant la protéine GDH (glutamate déshydrogénase) recombinante et les toxines A et B purifiées de *C. difficile* en tant qu'étalons internes.

### Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée n'a été détectée contre d'autres pathogènes gastro-intestinaux, d'autres organismes, substances et/ou marqueurs fécaux occasionnellement présents dans les selles.

### GDH

Adénovirus	<i>Escherichia coli</i> O111	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
Astrovirus	<i>Escherichia coli</i> O26	Rotavirus
Hémoglobine bovine	<i>Escherichia coli</i> O157	RSV
<i>Campylobacter coli</i>	Toxine A de <i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella paratyphi</i> A
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Giardia</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Clostridium bifementas</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	Calprotectine humaine	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	Hémoglobine humaine	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium novyi</i>	Lactoferrine humaine	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium tetani</i>	Transferrine humaine	<i>Shigella sonnei</i>
Toxine B de <i>Clostridium difficile</i>	Virus de la grippe A	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Virus de la grippe B	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Clostridium septicum</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Norovirus GII	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:3
<i>Entamoeba histolytica</i>	Hémoglobine porcine	<i>Yersinia Enterocolitica</i> O:9

Il a été observé que *C. sporogenes* (CECT 485) et *C. bolutinium* (CECT 551) peuvent être détectés avec le kit **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A + B**. Des études d'intercomparaison ont montré que *C. sordelii* (ATCC 9714) produisait un signal positif dans ce kit Vitassay, mais l'origine de ce résultat positif n'a pas pu être établie. Il n'a donc pas été considéré comme une véritable réactivité croisée.

### Toxine A+B

Adénovirus	<i>Giardia</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
Astrovirus	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
Calprotectine humaine	Hémoglobine bovine	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Campylobacter coli</i>	Hémoglobine porcine	Transfrine humaine
<i>Campylobacter jejuni</i>	Hémoglobine humaine	<i>Salmonella paratyphi</i> A
Antigène de <i>Clostridium difficile</i> GDH	Virus de la grippe A	<i>Salmonella typhi</i>

<i>Clostridium difficile</i> Toxine A (bande : Toxine B)	Virus de la grippe B	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium difficile</i> Toxine B (bande : Toxine A)	Lactoferrine humaine	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
Coronavirus	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Norovirus GI	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	Norovirus GII	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> O111	Rotavirus	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
<i>Escherichia coli</i> O26	RSV	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9
<i>Escherichia coli</i> O157		

### Interférences

Les interférences possibles ont été évaluées en utilisant les **composés exogènes et les médicaments** suivants aux concentrations indiquées (aucune interférence n'a été constatée) :

Acétylcystéine (Fluimucil)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Acétyl salicylique (Adiro)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Afrin (Oxymétazoline)	5,0-10-2 mg/mL	Pas d'interférence
Almagato (Almax)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Amantadine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Chlorhydrate d'ambroxol (Mucosan)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Amoxicilline	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Ampicilline	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Benzocaïne (Angleptol)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Biotine	100,0 µg/mL	Pas d'interférence
Carbocistéine (Iniston mucolitique)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Ciprofloxacine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Cloperastine (Flutox)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Codéine (Toseina)	0,2 mg/mL	Pas d'interférence
Gouttes nasales CVS (Phényléphrine)	10,0 mg/mL	Pas d'interférence
CVS Spray nasal (Cromolyn)	4 mg/mL	Pas d'interférence
Dexchlorophéniramine (Polaramine)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Dexketoprofen trometamol (Enantyum)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Ebastine (Ebasterl)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Propionate de fluticasone	5,0-10-2 mg/mL	Pas d'interférence
Fosfamyne (Monurol)	3,0-10-3 mg/mL	Pas d'interférence
Héparine (Hibor)	350,0 UI/mL	Pas d'interférence
Chlorhydrate d'hydroxyzine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Homéopathie	Dilution 1/10	Pas d'interférence
Ibuprofène (Espidifen)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Levofloxacine	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Chlorhydrate de lopéramide (Fortasec)	0,15 mg/mL	Pas d'interférence
Loratadine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Lorazepam	3,0-10-3 mg/mL	Pas d'interférence

Carbocystéinate de lysine (Pectox)	3,0-10-2 mg/mL	Pas d'interférence
Macrogol 3350 (Movicol)	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Mercaptopurine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Métamizole ( <i>Nolofin</i> )	5,0 mg/mL	Pas d'interférence
Métronidazole	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Mupirocine	2,5-10-2 mg/mL	Pas d'interférence
Naso GEL	0,9 mg/mL	Pas d'interférence
Omeprazole	2,0-10-3 mg/mL	Pas d'interférence
Oseltamivir	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Paracétamol ( <i>Dolocetil</i> )	5,0 mg/mL	Pas d'interférence
Phénoxyéthylpénicilline potassique	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Phénulpropanolamine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Prednisone	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Ribavirine	3,0 mg/mL	Pas d'interférence
Rifampicine (Rifalidin)	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
Maux de gorge Spray au phénol	0,5 mg/mL	Pas d'interférence
Tobramycine	0,3 mg/mL	Pas d'interférence
ZICAM	1,0 mg/mL	Pas d'interférence

En outre, les substances endogènes humaines suivantes ont également été analysées. Comme précédemment, aucune interférence n'a été constatée :

Sang humain	5,0 %	Pas d'interférence
Calprotectine humaine	5,0 µg/mL	Pas d'interférence
Hémoglobine humaine	5,0 µg/mL	Pas d'interférence
Lactoferrine humaine	5,0 µg/mL	Pas d'interférence
Transferrine humaine	0,5 µg/mL	Pas d'interférence
Mucine	0,5 %	Pas d'interférence

### Répétabilité et reproductibilité

Les études de répétabilité et de reproductibilité réalisées avec différents échantillons positifs et négatifs n'ont révélé aucune différence entre les évaluations.












### Effet crochet

Aucun effet de crochet inhibiteur n'a été démontré à des concentrations supérieures à  $10^5$  fois la limite de détection ( $10^5$  xLoD) pour la GDH, ni à  $10^2$  fois la limite de détection ( $10^2$  xLoD) pour la toxine A, ni à des concentrations  $10^4$  fois la limite de détection ( $10^4$  xLoD) pour la toxine B dans le kit **Vitassay Clostridium difficile GDH+Toxine A + B**.

### RÉFÉRENCES

1. Abt MC, McKenney PT, Pamer EG. Clostridium difficile colitis: pathogenesis and host defence. Nat Rev Microbiol. 2016 Oct;14(10):609-20. doi: 10.1038/nrmicro.2016.108. Epub 2016 Aug 30. PMID: 27573580; PMCID: PMC5109054.

2. Burke KE, Lamont JT. Clostridium difficile infection: a worldwide disease. Gut Liver. 2014 Jan;8(1):1-6. doi: 10.5009/gnl.2014.8.1.1. Epub 2014 Jan 13. PMID: 24516694; PMCID: PMC3916678.
3. CDC."What Is C. Diff?" Centers for Disease Control and Prevention, Centers for Disease Control and Prevention, 20 July 2021, <https://www.cdc.gov/cdiff/what-is.html>. Accessed 05 January 2021
4. Guery B, Galperine T, Barbut F. Clostridioides difficile: diagnosis and treatments. BMJ. 2019 Aug 20;366:l4609. doi: 10.1136/bmj.l4609. PMID: 31431428.
5. Marra AR, Perencevich EN, Nelson RE, Samore M, Khader K, Chiang HY, Chorazy ML, Herwaldt LA, Diekema DJ, Kuxhausen MF, Blevins A, Ward MA, McDanel JS, Nair R, Balkenende E, Schweizer ML. Incidence and Outcomes Associated With Clostridium difficile Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. 2020 Jan 3;3(1):e1917597. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2019.17597. PMID: 31913488; PMCID: PMC6991241.
6. McDonald LC, Killgore GE, Thompson A, Owens RC Jr, Kazakova SV, Sambol SP, Johnson S, Gerding DN. An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N Engl J Med. 2005 Dec 8;353(23):2433-41. doi: 10.1056/NEJMoa051590. Epub 2005 Dec 1. PMID: 16322603.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Clostridioides (Clostridium) difficile infections. Annual epidemiological report for 2016–2017. Stockholm: ECDC; 2022.

	Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limite de la température
	Expire le		Fabricant
	Code du lot		Quantité suffisante pour <n> tests.
	Diluant d'échantillon		Code produit
	Marquage CE		



