CoproStrip™ C. difficile GDH

Un test rapide qui permet en une seule étape la détection qualitative de l'antigène de la glutamate déshydrogénase de *Clostridium difficile* dans les matières fécales humaines.

MANUEL D'INSTRUCTION
Kit de test pour 20 déterminations
(Catalogue n° 41222)

Reservé uniquement pour un diagnostic in vitro professionnel
Veuiilez le conserver à 2-30°C.
Ne pas le congeler.

Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAËL
Tél : +972.8.8562920
Fax : +972.8.8523176
E-mail : support@savyondiagnostics.com

Utilisation prévue : Le test CoproStrip™ C. difficile GDH est un immunodosage chromatographique rapide effectué en une étape pour la détection qualitative de l'antigène de la *Clostridium difficile* glutamate déshydrogénase dans les échantillons de matières fécales humaines afin de faciliter le diagnostic de *Clostridium difficile*.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION :

Clostridium difficile désigne un bacille anaérobie à Gram positif formant des spores. La caractéristique essentielle qui lui permet de survivre chez les patients et dans l'environnement physique pendant longtemps et de faciliter ainsi sa transmission est la capacité de *C. difficile* à former des spores. La transmission de *C. difficile* se fait par voie fécale-orale. Cet agent pathogène constitue la cause principale des problèmes de diarrhée associée aux antibiotiques et/ou de colite pseudo-membraneuse chez les patients hospitalisés.
La flore bactérienne colique mature d'un adulte en bonne santé est généralement résistante à la colonisation par *C. difficile*. Cependant, si la flore colique normale est altérée, la résistance à la colonisation est perdue. Ainsi, tout facteur associé à l'altération de la flore entérique normale augmente le risque de colonisation par *C. difficile* après une exposition aux antibiotiques, en particulier ceux à large spectre d'activité tels que les pénicillines, les céphalosporines et la clindamycine.
C. difficile a la faculté de libérer deux toxines de haut poids moléculaire, à savoir la toxine A et la toxine B, lesquelles sont responsables des manifestations cliniques, qui vont de la diarrhée aqueuse légère et autolimitée à la colite pseudomembraneuse fulminante, au mégacôlon toxique et à la mort. La toxine A a été décrite comme une entérotoxine qui endommage les tissus tout en attirant les neutrophiles et les monocytes, tandis que la toxine B est une cytotoxine puissante qui dégrade les cellules épithéliales du côlon. La plupart des souches virulentes produisent les deux toxines, mais les souches négatives à la toxine A et positives à la toxine B sont également capables de provoquer des maladies. L'enzyme Glutamate Déshydrogénase (GDH) est sécrétée en grande quantité par toutes les souches de *Clostridium difficile*, qu'elles soient toxigènes ou non, ce qui en fait un excellent marqueur de l'organisme.

PRINCIPE DE LA PROCÉDURE

Le CoproStrip™ C. difficile GDH test est un immunodosage qualitatif à flux latéral permettant la détection de l'antigène GDH dans des échantillons de matières fécales humaines. La membrane est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre l'antigène GDH au niveau de la ligne de test. Lors du déroulement du test, l'échantillon réagit avec les particules de couleur rouge recouvertes d'anticorps anti-GDH, qui ont été pré-séchées sur la bandelette de test. Le mélange se déplace vers le haut de la membrane par capillarité. Lorsque l'échantillon traverse la membrane de test, les particules colorées conjuguées migrent. En cas de résultat positif, les anticorps spécifiques présents sur la membrane réagiront avec le conjugué et généreront une ligne de couleur rouge. Le mélange continue à se déplacer à travers la membrane jusqu'à l'anticorps immobilisé situé au niveau de la bande de contrôle. Une ligne de couleur verte apparaît toujours dans la ligne de contrôle et permet ainsi de vérifier si un volume suffisant a été ajouté, si un débit correct a été obtenu et sert de contrôle interne pour les réactifs.

MATÉRIAUX FOURNIS

- 20 Cassettes CoproStrip™ C. difficile GDH
- 20 Flacons de prélèvement d'échantillons avec tampon

MATÉRIAUX NON FOURNIS

- Récipient destiné à la collecte des spécimens
- Gants jetables
- Minuteur

AVERTISSEMENT ET PRÉCAUTIONS

- Réservé uniquement à un usage de diagnostic *in vitro* professionnel.
- Ne l'utilisez pas après la date d'expiration.
- Le test doit rester dans l'étui scellé jusqu'à son utilisation.
- Ne pas utiliser le test si l'étui est endommagé.
- Veuillez respecter les bonnes pratiques de laboratoire, porter des vêtements de protection, utiliser des gants à usage unique, ne pas manger, boire ou fumer dans la zone.
- Tous les spécimens doivent être considérés comme potentiellement dangereux et traités de la même manière qu'un agent infectieux.
- Une fois le test terminé, il doit être jeté dans un conteneur pour déchets biologiques approprié.
- Le test doit être effectué dans les 2 heures suivant l'ouverture du sachet en aluminium scellé.

STOCKAGE ET STABILITÉ

Veuillez conserver le produit tel qu'il est emballé dans le sachet scellé, au réfrigérateur ou à température ambiante (2-30ºC). Le test reste stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'étui scellé .Le test doit rester dans l'étui scellé jusqu'à son utilisation. Ne pas le congeler.

COLLECTION ET PRÉPARATION DES SPÉCIMENS

Veuillez prélever une quantité suffisante de matières fécales (1-2 g ou mL pour un échantillon liquide). Les échantillons de

selles doivent être recueillis dans des récipients propres et secs (sans conservateur ni milieu de transport). Les échantillons peuvent être conservés au réfrigérateur (2-8ºC) pendant 7 heures avant d'être testés. Pour une durée de conservation plus longue (maximum 1 an), l'échantillon doit être conservé congelé à -20ºC. Dans ce cas, l'échantillon sera totalement décongelé, et ramené à température ambiante avant d'être testé.

PROCÉDURES

Pour l'analyse des échantillons de selles collectés (voir illustration 1) :
Veuillez utiliser un flacon de prélèvement différent pour chaque échantillon. Veuillez ouvrir le flacon et introduire le bâtonnet dans l'échantillon de matières fécales afin de prélever l'échantillon (environ 125 mg).
Veuillez fermer le flacon contenant le tampon et l'échantillon de selles. Veuillez secouer le flacon afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon. Pour les échantillons de selles liquides, il convient de prélever l'échantillon de selles à l'aide d'un compte-gouttes et d'en ajouter 125 µL dans le flacon de collecte d'échantillons avec tampon.

Procédure de test (voir illustration 2)
Veuillez laisser les tests, les échantillons de selles et le tampon atteindre la température ambiante (15-30ºC) avant de procéder aux tests. Veuillez ouvrir l'etui uniquement au moment de l'analyse.

1. Veuiilez retirer la cassette CoproStrip™ C. difficile Toxine GDH de son étui scellé et l'utiliser dès que possible.
2. Veuillez secouer le flacon de prélèvement de l'échantillon pour assurer une bonne dispersion de ce dernier. Cassez l'extrémité du flacon.
3. Veuillez utiliser un dispositif différent pour chaque échantillon. Versez exactement 4 gouttes dans le puits de l'échantillon (S). Mettre en marche le minuteur.
4. Consultez les résultats au bout de **10 minutes** après avoir effectué le prélèvement de l'échantillon.

Illustration 1

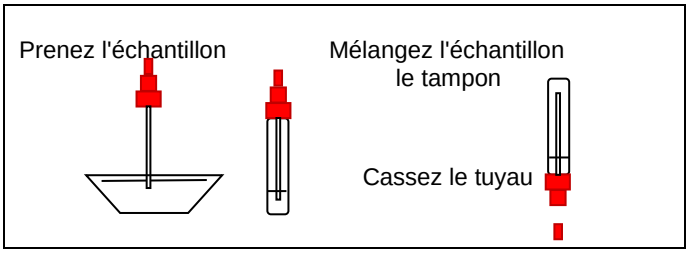
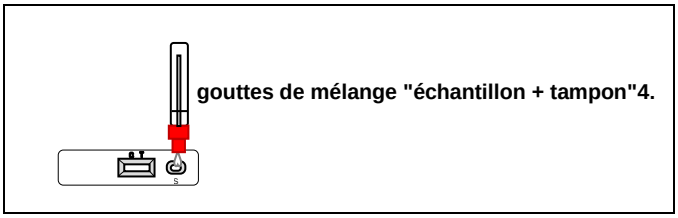
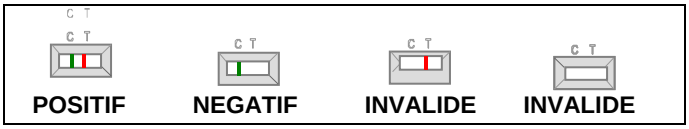


Illustration 2



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Illustration 3



POSITIF : Deux lignes apparaissent à travers la fenêtre centrale, la ligne **rouge** de test marquée de la lettre T et la ligne **verte** de contrôle marquée de la lettre C.
NEGATIF : Une seule ligne **verte** apparaît dans la fenêtre de résultats.
INVALIDE : Il est à noter que la ligne de contrôle verte peut être totalement absente, indépendamment de l'apparition ou non de la ligne de test rouge dans chaque bande. Note : Un volume d'échantillon insuffisant, des techniques procédurales incorrectes ou la détérioration des réactifs sont les principales raisons de l'échec des lignes de contrôle. Veuillez revoir la procédure et refaire l'analyse avec un nouveau test. Si le problème persiste, cessez d'utiliser le kit de test et contactez votre distributeur local. Voir l'illustration 3.

REMARQUES SUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'intensité de la bande de couleur rouge dans la région de la ligne de résultat (T) varie en fonction de la concentration de la GDH dans l'échantillon. Cependant, ni la valeur quantitative, ni le taux d'augmentation des antigènes ne peuvent être déterminés par ce test qualitatif.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Les contrôles procéduraux internes sont inclus dans le test : Une ligne verte (C) apparaît dans la fenêtre des résultats. Il confirme un volume d'échantillon suffisant et une technique procédurale correcte.

LIMITES DES PROCÉDURES

1. *C. difficile* Ag (GDH) test indique uniquement la présence de *Clostridium difficile* dans l'échantillon (détection qualitative) et doit être utilisé pour la détection de l'antigène GDH de *Clostridium difficile* dans les échantillons de matières fécales uniquement. Ce test ne permet de déterminer ni la valeur quantitative ni le taux d'augmentation de la concentration des antigènes .
2. L' excès d'échantillon peut entraîner des résultats erronés (une ligne marron-violet apparaît). Dans ce cas, veuillez diluer l'échantillon avec le tampon et reprendre le test.
3. Certains échantillons de selles peuvent diminuer l'intensité de la bande de contrôle.
4. Ce test fournit un diagnostic présomptif d'une infection causée par *Clostridium difficile*. La confirmation d'une infection ne doit être faite par un médecin qu'après l'évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire, et doit être basée sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
5. Les résultats positifs confirment la présence de *Clostridium difficile*-GDH dans les échantillons de matières fécales ; toutefois, leur présence peut être due à des souches toxigènes ou non de *Clostridium difficile*. Un résultat positif doit être suivi de techniques de laboratoire supplémentaires pour identifier la souche.
6. Les échantillons de selles sanglantes peuvent contenir des composants susceptibles de provoquer des réactions non spécifiques au test. Tout échantillon de selles sanglantes dont le résultat est positif doit être suivi d'autres techniques de diagnostic afin de confirmer le résultat.
7. Les échantillons de selles muqueuses risquent de provoquer des réactions non spécifiques lors du test-

Chaque échantillon de selles muqueuses dont le résultat est positif doit être suivi d'autres techniques de diagnostic qui contribueront à la confirmation des résultats.

VALEURS ATTENDUES

Clostridium difficile est associé à 95-100% à des cas de colite pseudo-membraneuse, 60-75% à des cas de colite associée aux antibiotiques et 35% à des cas de diarrhée associée aux antibiotiques.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ

Deux études comparatives réalisées en interne avec le test CoproStrip™ C. difficile GDH et deux autres immunodosages commerciaux *C. DIFF QUIK CHEK Complete*® et le test rapide Wampole™ *C. Diff Chek*™-60, Techlab, test ELISA avec 74 et 88 échantillons de selles de patients symptomatiques atteints de diarrhée respectivement, ont enregistré les performances suivantes :

- *C. DIFF QUIK CHEK Complete*®,
  Sensibilité >99% et spécificité >99%.
- Wampole™ *C. Diff Chek*™-60
  Sensibilité >95% et spécificité >99%.

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La validation interne visant à déterminer la réactivité croisée du test CoproStrip™ C. difficile GDH avec d'autres agents pathogènes de la gastro-entérite a montré qu'il n'y a pas de réactivité croisée avec les micro-organismes gastro-intestinaux courants présents dans les matières fécales, tels que ceux énumérés ci-dessous :

- *Campylobacter spp*
- *E. coli*
- *H. pylori*
- *Listeria*
- *Salmonella*
- *Shigella.*
- *Staphylococcus aureus*
- *Yersinia*

BIBLIOGRAPHIE

1. WREN, M.W.D, et al. “Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection .An evaluation of tests for faecal toxin, glutamate dehydrogenase, lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory”. British Journal of Biomedical Science, 66 (1), 2009.
2. VAISHNAVI, Ch., “Clinical spectrum & pathogenesis of *Clostridium difficile* associated diseases”. Indican J. Med. Res ,131 .April 2010, pp 487-499.
3. POUTANEN, S. M. et al. ”*Clostridium difficile*-associated diarrhoea in adults”, CMAJ, 171(1) July 2004, pp. 51-58.

Savyon® Diagnostics Ltd.
3 Habosem St. Ashdod 7761003
ISRAËL
Tél : +972.8.8562920
Fax : +972.8.8523176
E-mail : support@savyondiagnostics.com

Représentant européen autorisé :Obelis s.a .
Boulevard Général Wahis 53, B-1030 Bruxelles
Tél : +32.2.732.59.54 Fax : +32.2.732.60.03
E-mail : mail@obelis.net

Symboles des composants et réactifs de DIV			
	Fabricant	IVD	Réservé uniquement à un usage de diagnostic in vitro professionnel
EC REP	Représentant autorisé		Veuillez consultez le mode d'emploi
Σ n	Contient suffisamment d'éléments pour <n>tests		Veuillez le conserver au sec
REF	Code du catalogue		Limitation de température
LOT	Numéro de lot		Utilisé par
DIL	Diluant pour échantillon		