

UTILISATION

Le test Proflow™ C. difficile GDH est un test qualitatif d'immunochromatographie destiné à la détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) de *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles. Le test Proflow™ C. difficile GDH est conçu pour être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections à *C. difficile*. Le test détecte la GDH et ne différenciera pas les souches toxigènes de *C. difficile* de celles non toxigènes. Comme les autres tests de détection de *C. difficile*, les résultats doivent être interprétés en tenant compte des antécédents du patient et des examens complémentaires de laboratoire. Ce test est conçu pour être utilisé uniquement dans un laboratoire.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Clostridium difficile est un bacille anaérobie, sporulé et gram positif. Même si la plupart des souches isolées sont non toxigènes, certaines d'entre elles produiront les toxines A ou B. La toxine A est une entérotoxine et la toxine B est une cytotoxine. Ces toxines peuvent entraîner une diarrhée aqueuse et causer une colite pseudo-membraneuse (CPM) en présence d'antibiotiques à large spectre et d'autres agents. L'incidence de la maladie augmente avec l'âge, un système immunitaire compromis et la durée du séjour hospitalier. *C. difficile* produit des spores résistantes aux acides et se transmet par des surfaces contaminées ou un contact physique. *C. difficile* est la cause la plus couramment identifiée de diarrhée nosocomiale chez les adultes.

Les infections à *C. difficile* (ICD) sont classées en deux groupes en fonction de leur gravité : diarrhée post-antibiotiques et CPM. Les CPM représentent 7 % à 9 % des ICD. Une CPM commence généralement par une diarrhée aqueuse accompagnée de fièvre et de douleur abdominale. Un examen endoscopique peut permettre de voir des lésions pseudo-membraneuses. La mortalité due aux infections à *C. difficile* varie de 0,6 % à 1,5 %, mais elle peut atteindre 35 % à 50 % pour les populations sensibles.

Il est possible de diagnostiquer une infection à *C. difficile* par la détection des toxines ou par la détection de la glutamate déshydrogénase (GDH) directement dans les échantillons de selles. Tous les isolats de *C. difficile* produisent de la GDH si bien que l'analyse de la GDH peut être une méthode de dépistage de *C. difficile*. L'analyse ultérieure de la production de toxine est nécessaire pour confirmer le diagnostic.

PRINCIPE DU TEST

Le test Proflow™ C. difficile GDH est un test qualitatif d'immunochromatographie destiné à la détection de l'antigène de GDH dans les selles. Le test utilise des anticorps spécifiques de la GDH recouvrant la membrane de la ligne d'analyse. Durant l'analyse, la GDH présente dans les échantillons de selles réagit avec les anticorps anti-GDH (conjugués avec des particules d'or) et migre sur la membrane par capillarité. Ensuite, il se produit une réaction avec les anticorps anti-GDH recouvrant la ligne d'analyse. La présence d'une ligne de couleur indique un résultat positif alors que l'absence de ligne de couleur indique un résultat négatif. Une seconde ligne de capture contenant des anticorps de lapin anti-souris sert de contrôle de la procédure et doit être présente pour obtenir un test valide.

MATÉRIELS FOURNIS

- **Cassettes de test (PL.3101)** : 20 cassettes conditionnées avec un agent desséchant dans des pochettes en aluminium individuelles.
- **Diluant d'échantillon (PL.3102)** : 1 flacon compte-gouttes de diluant d'échantillon contenant 21 ml de solution tampon contenant des protéines et un agent conservateur.
- **Contrôle positif (PL.3103)** : 1 flacon compte-gouttes de contrôle positif prêt à l'emploi contenant 0,5 ml de GDH recombinée dans une solution tampon contenant des protéines et un agent conservateur.

- **Pipettes jetables** : 20 pipettes jetables servant au prélèvement d'échantillons liquides.
- Notice d'utilisation

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Minuterie
- Tubes à essai pour la préparation des échantillons
- Pipette
- Agitateur vortex

STABILITÉ ET STOCKAGE

- Les réactifs doivent être stockés à une température comprise entre 2 et 30°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas ouvrir à l'avance, le test étant sensible à l'humidité et à la chaleur. Ouvrir juste avant l'emploi.
- **Ne pas congeler.**
- Ne pas utiliser le kit au-delà de sa date d'expiration.
- Les flacons compte-gouttes doivent être refermés après chaque utilisation et stockés avec les autres éléments de la boîte. Une fois ouvert, le tampon reste stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.

PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. Ce kit est exclusivement réservé aux emplois de diagnostic *in vitro*.
2. Respecter à la lettre le mode d'emploi.
3. Les cassettes de test et les pipettes en plastique fournies dans le kit sont à usage unique. Ne pas les réutiliser.
4. Ne pas intervertir ou mélanger de réactifs provenant de différents kits et différents lots.
5. Ne pas utiliser une cassette de test si sa pochette en aluminium a été ouverte ou endommagée.
6. Les précautions universelles devront être observées lors de la manipulation, du traitement et de l'élimination de tous les matériels utilisés pour réaliser ce test.
7. Ce dispositif contient des matières d'origine animale et devra être manipulé comme potentiellement susceptible de transporter et transmettre des maladies.
8. L'ajout de conservateurs tels que le SAF (mélange d'acétate de sodium-acide acétique-formol à 10%) peut occasionner des résultats faux négatifs.

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

1. Effectuer le test dès que possible après le prélèvement du spécimen.
2. Les échantillons se conservent à une température comprise entre 2 et 8°C pendant un maximum de 48 heures, et s'ils sont congelés à -20°C, pendant un mois. Pour une conservation de long terme, ils doivent être congelés à -80°C.
3. Si le spécimen a été réfrigéré, il faut le laisser atteindre la température ambiante avant de procéder au test.
4. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et mélangés avant le test.
5. Ne pas soumettre les spécimens à des cycles répétés de congélation et décongélation.
6. Il est possible de conserver les échantillons dans du milieu de transport Carey Blair jusqu'à 1 semaine à 4 °C sans que cela n'ait d'impact sur les performances du test.
7. Lors de l'analyse des échantillons de selles avec du milieu de transport Cary Blair, mélanger 300 µl d'échantillon de selles avec 300 µl de tampon de dilution, ajouter 100 µl de la dilution dans le puits pour échantillon de la cassette, puis lire le résultat après 15 minutes.

PROCÉDURE DE TEST

1. Laisser le spécimen, les cassettes de test et les réactifs atteindre la température ambiante avant de procéder au test.
2. Ouvrir la pochette en aluminium, en sortir la cassette et la placer sur une surface propre et plane.
3. Ajouter 1 ml de diluant d'échantillon à un tube.
4. En utilisant l'une des pipettes jetables, transférer 100 µl de selles liquides (en remplissant la pipette jusqu'au niveau du premier repère) au tube de diluant d'échantillon. Si le spécimen de selles est formé, transférer un morceau de la taille d'un pois (environ 100 mg) au tube à échantillon.
5. Mélanger au mélangeur vortex. (Utiliser la dilution dans l'heure qui suit)
6. Prélever 100 µl de dilution pour l'ajouter dans le puits à échantillon (S) de la cassette de test.
7. Relever le résultat du test au bout de 15 minutes.

Procédure pour le contrôle positif :

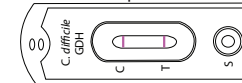
1. Ouvrir la pochette en aluminium, en sortir la cassette et la placer sur une surface propre et plane.
2. Dispenser 2 gouttes (100 µl) de contrôle positif dans le puits à échantillon (S) de la cassette.
3. Relever le résultat du test au bout de 15 minutes.

PROCÉDURE DE CONTRÔLE QUALITÉ

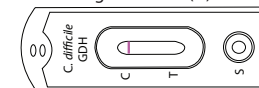
Un contrôle positif servant à valider le dispositif est fourni avec le kit. La ligne de contrôle (C) est un témoin de procédure et indique que le test a été correctement réalisé, elle prouve qu'un flux adéquat a eu lieu et que les réactifs du test ont fonctionné conformément aux attentes. Une tâche de coloration brune peut apparaître sur la membrane. Elle n'a aucun effet sur le résultat du test.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS
POSITIF :

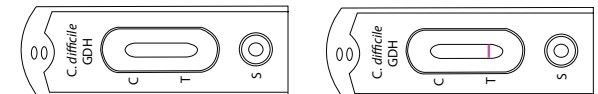
Un résultat positif est indiqué par la présence de deux bandes violettes distinctes. Une sur la ligne de contrôle (C) et une sur la ligne de test (T). Quelle que soit l'intensité des bandes, toute ligne de ces zones doit être interprétée comme révélant un résultat positif.


NÉGATIF :

Une seule bande violette apparaît en ligne de contrôle (C). Il ne doit y avoir aucune bande sur la ligne de test (T).


INVALIDE :

Si aucune ligne n'apparaît sur la cassette de test ou qu'une ligne apparaît uniquement sur la ligne de test, cela signifie que le résultat est invalide. Si cela se produit, vérifier la procédure et recommencer le test en prenant une nouvelle cassette de test et un nouveau tube à essai. Si le problème persiste, contacter Pro-Lab sans délai.



LIMITATIONS DE LA PROCÉDURE

1. Ce test est basé sur la détection de la présence de la protéine GDH de *C. difficile* dans les selles. Le test ne doit pas être utilisé seul pour diagnostiquer une maladie associée à *C. difficile*.
2. La GDH est une enzyme caractéristique produite par *C. difficile*, mais le test ne fait pas la distinction entre la souche toxigène et la souche non-toxigène. D'autres tests sont nécessaires pour confirmer la présence de souches toxigènes de *C. difficile*.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Étude clinique

Les performances cliniques du test Proflow™ *C. difficile* GDH ont été évaluées dans deux sites externes d'étude clinique (tableau 1).

Tableau 1 : Valeurs de sensibilité, de spécificité et de pourcentage de concordance du test Proflow™ *C. difficile* GDH après résolution des faux positifs

Emplacement	Méthode de culture	Vrai positif	Faux négatif	Vrai négatif	Faux positif	Sensibilité	Spécificité
Site 1*	Culture bactérienne	80	8	366	26	90,9 % (82,4-95,7) ***	93,4 % (90,3-95,5)
Site 2**	Culture toxigène	21	3	266	14	87,5 % (66,5-96,7)	95,5 % (91,6-97,1)
Combiné	---	101	11	632	40	90,2 % (82,7-94,8)	94,0 % (91,9-95,7)

* Les échantillons qui étaient initialement négatifs pour la culture et positifs pour Proflow ont été analysés en utilisant un test d'amplification de l'acide nucléique homologué pour la détection des gènes des toxines A et B.

** Les échantillons qui étaient initialement négatifs pour la culture et positifs pour Proflow ont été analysés à nouveau après enrichissement de la culture.

*** Intervalles de confiance à 95 %.

Milieu de transport

Des échantillons de culture positifs (n=13) et négatifs (n=9) ont été analysés après conservation pendant 1 semaine dans du milieu de transport Cary Blair à 4 °C. Tous les échantillons ont donné les résultats attendus après une conservation dans du milieu de transport Cary Blair pendant 1 semaine. La conservation dans le milieu de transport Cary Blair n'a pas d'impact sur les performances du test.

Limite de détection du test

La limite de détection du test Proflow™ *C. difficile* GDH se situait entre 2,65 x 105 et 1,49 x 106 unités formant colonie par ml avec deux souches de *C. difficile*.

Réactivité croisée






Au total, 46 micro-organismes ont été évalués pour détecter une éventuelle réactivité croisée en les analysant dans un milieu de culture ou après leur ajout dans des échantillons de selles négatives pour *C. difficile*. Un seul micro-organisme, *Clostridium sporogenes*, a été réactif quand il a été analysé dans les échantillons de selles. Ce micro-organisme ne se trouve pas habituellement dans les échantillons de selles ; par conséquent, il est improbable qu'il entraîne des résultats faussement négatifs.

Substances interférentes

Des substances potentiellement interférentes ont été évaluées en les ajoutant à des échantillons de sellesensemencés de *C. difficile*. L'évaluation des substances a inclus des anti-acides, des anti-diarrhéiques, des laxatifs, des antibiotiques, des graisses fécales, du sang, du mucus, du produit de contraste et des médicaments contre les flatulences. Aucune des substances évaluées n'a produit d'interférences avec le test ou n'a donné des résultats faussement positifs.

RÉFÉRENCES

1. **Fenner L., Widmer A.F., Goy G., Rudin S., Frei R.** (2008). Rapid and Reliable Diagnostic Algorithm for Detection of *Clostridium difficile*. J. Clin. Microbiol. 46 (1). 328-330.
2. **Barbut F., and J.C. Petit.** (2001). Epidemiology of *Clostridium difficile*-Associated Infections. Clin Microbiol Infect. 7 (8). 405-410
3. **Shea-idsa guideline. Cohen S.H.; Gerding D.N., Johnson S., Kelly C.P., Loo V.G., McDonald L.C., Pepin J., Wilcox M.H.** (2010). Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA) Infection control and hospital epidemiology. 31 (5)
4. **Eastwood K., Else P., Charlett A., Wilcox M.** (2009). 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. J. Clin. Microbiol. 47(10). 3211-3217.
5. **Crobach M.J.T, Dekkers O.M., Kuijper E.J.** European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). (2009). Data Review and Recommendations for Diagnosing *Clostridium difficile*-infection (CDI). Clin Microbiol Infect. 15. 1053-1066.

	= Fabricant
	= Contenu suffisant pour (n) tests
	= Dispositif medical de diagnostic in vitro
	= Limite de temperature
	= Consulter la notice d' utilisation

Ce mode d'emploi est une traduction professionnelle de la version anglaise d'origine. En cas d'ambiguïté ou de divergence flagrante, veuillez consulter le Service de soutien de Pro-Lab.