

RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH

REF C0701



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH est un test immunoenzymatique destiné à la détection qualitative de la glutamate déshydrogénase spécifique de *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles humaines.

2. Résumé et explication du test

Clostridium difficile est une bactérie strictement anaérobie, sporulante et en forme de bâtonnet qui fait partie de la flore normale des selles humaines. En 2016, il a été proposé de changer le nom de la bactérie à *Clostridioides difficile*. L'usage des deux noms est accepté de nos jours.

Dans des conditions normales, le taux de colonisation de ces agents pathogènes, pour la plupart inoffensifs, est très élevé pendant la petite enfance, pouvant atteindre 80 %. Ce taux diminue régulièrement tout au long de la vie et ne représente plus que 2 à 10 % en moyenne chez l'adulte. Cependant, dans certaines conditions, par exemple lors d'un séjour à l'hôpital, il peut légèrement dépasser 30 %. Pour qu'il y ait infection à *Clostridium difficile* (ICD), il est nécessaire qu'il y ait formation de toxines A (entérotoxine) et B (cytotoxine) d'un poids moléculaire élevé. Étant donné que certaines souches de *Clostridium difficile* ne produisent pas de toxines et qu'environ 2 à 8 % d'adultes et jusqu'à 80 % d'enfants de moins de deux ans peuvent être colonisés par *Clostridium difficile*, la détection des toxines A et B seules est particulièrement importante d'un point de vue pathognomonique en cas de suspicion de diarrhée associée à *C. difficile* (CDAD). Ceci dépend néanmoins de la capacité de colonisation du gros intestin par des bactéries *C. difficile* capables de générer suffisamment de toxines. La diminution de la flore intestinale protectrice est favorable à la colonisation. Un déséquilibre dû à une antibiothérapie, ou à d'autres facteurs susceptibles de compromettre l'immunité intestinale, peut notamment permettre la propagation de souches de *C. difficile* présentant une résistance forte et accrue à divers antibiotiques. D'autres facteurs de virulence, par exemple une production renforcée de toxines résultant de failles dans la régulation de plusieurs souches récemment définies, ont fait de *C. difficile* un « germe réémergent » dont la pathogénicité ne se limite plus aux personnes qui développent une infection à *Clostridium difficile* (ICD) à la suite d'une antibiothérapie, mais touche aussi des personnes n'ayant pas suivi de traitement et n'ayant pas été hospitalisées. L'importance grandissante de ce micro-organisme, en particulier en tant que pathogène nosocomial, a généré de nouvelles approches thérapeutiques, et, surtout, de nouveaux algorithmes pour le diagnostic des infections à *C. difficile*. Le principal objectif est de détecter *C. difficile* afin de prévenir la transmission à des patients hospitalisés, que les souches de *C. difficile* soient toxigènes ou non. La glutamate déshydrogénase (GDH), enzyme très répandue et présente en grande quantité dans de nombreux organismes, s'est révélée être un marqueur de dépistage sensible. Étant donné que de nombreuses bactéries intestinales possèdent cette enzyme, les

systèmes d'identification doivent pouvoir détecter la GDH spécifique de *C. difficile* avec une spécificité fiable et une sensibilité élevée.

Le présent test immunoenzymatique RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH satisfait pleinement à ces deux exigences. Alors que ce test immunoenzymatique ne peut se substituer à la détection indispensable des toxines A et B qui prouvent une ICD, il améliore la fiabilité de la détection de cet agent pathogène nosocomial très important lorsqu'il est mené séquentiellement ou parallèlement au test RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B ELISA. Seuls les symptômes spécifiques de la maladie et l'identification des toxines A et B permettent un diagnostic de l'ICD et la prise d'une décision adéquate quant à la thérapeutique à prescrire.

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH utilise des anticorps monoclonaux en appliquant une méthode de type sandwich. Ces anticorps monoclonaux ciblant la glutamate déshydrogénase de *Clostridium difficile* se fixent sur la surface des puits de la plaque de microtitrage.

Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-GDH biotinylés (conjugué 1) dans les puits de la plaque de microtitrage, puis sont mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Après une étape de lavage, le conjugué polyperoxydase-streptavidine (conjugué 2) est ajouté et de nouveau mis à incuber à température ambiante (20 à 25 °C). Toute GDH spécifique de *Clostridium difficile* présente dans l'échantillon forme un complexe sandwich incluant des anticorps immobilisés, la GDH et les anticorps conjugués. Une autre étape de lavage élimine le conjugué polyperoxydase streptavidine non fixé. Dans les échantillons positifs, après l'ajout d'un substrat, l'enzyme liée fait virer la solution incolore au bleu dans les puits de la plaque de microtitrage. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration de GDH de *Clostridium difficile* présente dans l'échantillon.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

Tableau 1 : Contenu du paquet

Plate	96 tests	Plaque de microtitrage, 12 barrettes de microtitrage (sécables) sur un support, revêtue d'anticorps spécifiques (de souris) dirigés contre la glutamate déshydrogénase spécifique de <i>Clostridium difficile</i> .
Diluent 1	100 ml	Tampon de dilution de l'échantillon 1, solution de NaCl tamponnée à la protéine, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash buffer	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control +	2 ml	Contrôle positif, protéine GDH inactivée, prêt à l'emploi
Control -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate 1	13 ml	Anticorps conjugués à la biotine (de souris) ciblant la glutamate déshydrogénase spécifique de <i>Clostridium difficile</i> dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur verte
Conjugate 2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée, prêt à l'emploi, de couleur orange
Substrate	13 ml	Peroxyde d'hydrogène/TMB, prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Réactif d'arrêt, acide sulfurique 1 N, prêt à l'emploi

Les matières dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être entreposés entre 2 et 8 °C et peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. La durée de conservation du

tampon de lavage dilué est de quatre semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C et d'une semaine à une température ambiante comprise entre 20 et 25 °C). La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Lorsqu'il est correctement conservé entre 2 et 8 °C, le kit ouvert peut être utilisé pendant au moins six semaines.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes de microtitrage qui ne sont pas nécessaires doivent être immédiatement remises dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Réactifs requis, mais non fournis

6.1 Réactifs nécessaires

Les réactifs suivants sont nécessaires pour l'exécution du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH :

Réactifs
Eau distillée ou désionisée

6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

L'équipement suivant est nécessaire pour l'exécution du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH :

Matériel
Flacons d'échantillons
Pipettes à usage unique (réf. : Z0001)
Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.3.)
Micropipette pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
Éprouvette graduée (1 000 ml)
Chronomètre
Appareil de lavage pour plaques de microtitrage ou pipettes multicanaux (300 µl)
Photomètre pour plaques de microtitrage (450 nm, filtre de référence 620 à 650 nm)
Papier filtre (lingettes de laboratoire)

7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Les échantillons ou réactifs ne doivent pas être pipetés à la bouche et tout contact avec une peau ou des membranes muqueuses lésées doit être évité. Lors de la manipulation des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

Le contrôle positif fourni dans le kit contient la protéine GDH recombinante. Il doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux, de la même manière que des échantillons de patient.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % en tant que conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être obtenus dès que possible, dans les trois jours qui suivent l'apparition des symptômes de diarrhée. Avant utilisation, le matériel de test doit être entreposé entre 2 et 8 °C. S'il n'est pas possible d'effectuer le test en l'espace de trois jours, il est préconisé de conserver le matériel à une température inférieure ou égale à -20 °C. Éviter de congeler et décongeler l'échantillon plusieurs fois. Un échantillon de selles dilué dans le tampon de dilution de l'échantillon 1/11 peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant trois jours maximum (Tableau 2).

Tableau 2 : Conservation des échantillons

Échantillon de selles non dilué		Échantillon de selles dilué
2 à 8 °C	≤ -20 °C	2 à 8°C
≤ 3 jours	> 3 jours	≤ 3 jours

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport incluant un milieu de transport comprenant des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH. Lorsque des frottis rectaux sont utilisés, il faut veiller à

disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 100 mg). La recherche des contacts doit inclure des échantillons de selles provenant des personnes ayant été en contact qui ne présentent pas de symptômes cliniques afin d'identifier des porteurs asymptomatiques.

9. Réalisation du test

9.1 Informations générales

Tous les réactifs et la plaque de microtitrage [Plate] doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Sortir les barrettes de microtitrage du sachet en aluminium une fois qu'elles ont atteint la température ambiante. Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation. Après utilisation, les barrettes de microtitrage (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être de nouveau conservés entre 2 et 8 °C.

Ne pas réutiliser les barrettes de microtitrage une fois utilisées. Ne pas utiliser les réactifs ou les barrettes de microtitrage si l'emballage est endommagé ou si les contenants fuient.

Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse.

Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Nous recommandons de couvrir la plaque de microtitrage ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2 Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage [Wash buffer] avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être préalablement dissous à chaud (bain-marie à 37 °C).

9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution de l'échantillon [Diluent | 1]. Aspirer un échantillon de selles liquides (environ 100 µl) au moyen d'une pipette à usage unique (réf. Z0001) jusqu'au-dessus du deuxième repère et ajouter au tampon du tube à essai pour obtenir une suspension. Lorsque les échantillons proviennent de selles dures, ajouter une quantité équivalente de l'échantillon de selles (environ 50 à 100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique et les mettre en suspension.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette jetable ou en mélangeant dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période (10 minutes) pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; utiliser le surnageant clarifié de la suspension de selles directement pour le test. Si la procédure de test est effectuée dans un automate ELISA, ce liquide surnageant doit être dépourvu de particules. Dans ce cas, une centrifugation est recommandée (2 500 G pendant 5 minutes).

Remarque : Les échantillons de selles dilués dans le [Diluent | 1] peuvent aussi être utilisés dans tout autre test RIDASCREEN® ELISA qui utilise aussi le [Diluent | 1].

9.4 Première incubation

Après avoir rempli une quantité suffisante de puits dans le support, ajouter 100 µl du contrôle positif [Control | +], du contrôle négatif [Control | -] ou de la suspension d'échantillon de selles dans les puits. Ajouter ensuite 100 µl de l'anticorps conjugué à la biotine [Conjugate | 1] et mélanger (en tapotant légèrement le bord de la plaque), puis incuber pendant 60 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.5 Lavage

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être déversée dans un conteneur de déchets et mise au rebut conformément aux réglementations officielles. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Puis laver la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage dilué [Wash buffer]. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé après chaque lavage.

En cas d'utilisation d'un laveur de microplaques ou d'un système ELISA entièrement automatisé, veiller à ce que l'appareil soit correctement réglé ou demander, au besoin, au fabricant de vous en fournir les réglages. Les appareils fournis par R-Biopharm sont déjà programmés avec des réglages et des protocoles de travail validés. Pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage, il convient de n'utiliser que des suspensions de selles dépourvues de particules (voir 9.3, Préparation des échantillons). S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage.

9.6 Deuxième incubation

À l'aide d'une pipette, ajouter 100 µl de conjugué polyperoxydase-streptavidine [Conjugate | 2] dans les puits, puis incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20 à 25 °C).

9.7 Lavage

Laver en suivant les instructions de la rubrique 9.5.

9.8 Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat [Substrate] dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (entre 20 et 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Puis arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de réactif d'arrêt [Stop] dans chaque puits.

Après un mélange soigneux (en tapotant légèrement le côté de la plaque), **mesurer l'extinction à 450 nm et à des longueurs d'onde de référence de 620 nm.**

Remarque : des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat.

9.9 Protocole de test réduit

Les durées d'incubation décrites aux sections 9.4, 9.6 et 9.8 peuvent être fortement diminuées lorsque la plaque est incubée à 37 °C, avec une fréquence d'agitation de 20 à 25 Hz (DSX- fabriqué par Dynex). Les durées d'incubation sont modifiées comme suit :

Première incubation : 30 min

Deuxième incubation : 15 min

Troisième incubation : 15 min

D'autres agitateurs de microplaques peuvent également être utilisés ; par exemple, le Thermomixer, fabriqué par Eppendorf (réglage de la vitesse : 850 tr/min) et le DTS-2, fabriqué par LTF Labortechnik (réglage de la vitesse : 800 tr/min).

10. Contrôle qualité – indication d'instabilité ou de détérioration des réactifs

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser des contrôles positif et négatif, pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. **Le test a été correctement effectué lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450/620 nm est inférieure à 0,160 et la valeur de la mesure du contrôle positif à 450/620 nm est supérieure à 0,8.** Une valeur supérieure à 0,160 pour le contrôle négatif pourrait indiquer que le lavage n'a pas été suffisant. Tout écart par rapport aux valeurs requises, par exemple la présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer une dénaturation des réactifs.

En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test
- Inspection visuelle des composants du kit à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1 Calcul de la valeur seuil

Pour déterminer la **valeur seuil**, on ajoute 0,10 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

Valeur seuil = valeur d'extinction du contrôle négatif + 0,10

11.2 Résultat du test

Un échantillon est considéré comme positif si sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Les échantillons qui sont situés à la limite et doivent être de nouveau testés sont ceux dont la valeur d'extinction va de $\leq 10\%$ au-dessus de la valeur seuil à $\leq 10\%$ en dessous de la valeur seuil. Si les résultats du nouveau test d'un échantillon de selles **nouvellement préparé** se trouvent de nouveau dans la zone grise, le résultat de l'échantillon doit être considéré comme **limite**.

Des échantillons ayant des valeurs inférieures à -10 % de la valeur seuil calculée doivent être considérés comme négatifs.

12 Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH détecte la glutamate déshydrogénase spécifique de *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre le niveau d'une valeur d'extinction déterminée et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. Seul le test indispensable et requis RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B ELISA, ainsi que les symptômes cliniques permettent de diagnostiquer l'ICD avec un degré de certitude élevé.

Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux ou d'autres causes.

Un résultat négatif n'exclut pas une éventuelle infection à *C. difficile*. Un tel résultat peut être causé par l'élimination temporaire de l'agent pathogène ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'ICD, un autre échantillon de selles doit être testé.

Un résultat limite peut être causé par une répartition non homogène des antigènes dans l'échantillon de selles. Dans un tel cas, il convient de tester une deuxième suspension provenant du même échantillon ou de demander un autre échantillon de selles à examiner.

13 Performances

13.1 Qualité du test

Une étude de validation rétrospective utilisant le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA a examiné 92 échantillons de selles. Les échantillons décongelés ont été homogénéisés et testés en comparaison avec le test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA et d'autres tests Elisa du commerce. Les résultats de l'étude sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3: Comparaison du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA avec un test ELISA du commerce

		Test ELISA de la concurrence	
		+	-
RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH	+	30	7
	-	0	55

Corrélation positive : 89,6 %

Corrélation négative : 94,0 %

13.2 Sensibilité analytique

Pour définir la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA, la limite du blanc (LdB) a été déterminée avec 90 tests d'échantillons de selles négatifs. La limite de détection (LdD) a ensuite été déterminée en utilisant 72 tests d'une protéine recombinante de glutamate déshydrogénase. Les résultats sont indiqués dans le tableau 4.

Tableau 4 : Résultats de la sensibilité analytique du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA

	VM [DO 450/620]	ng/ml
LdB	0,018	-
LdD	-	0,024

13.3 Réactivité croisée

Différents micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés à l'aide du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA et n'ont montré aucune réactivité croisée. Ces études ont été réalisées avec des suspensions de bactéries dont les concentrations étaient de 10^6 à 10^9 organismes par ml. Les surnageants de

culture virologique et les échantillons de selles sont également indiqués. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 5.

Tableau 5 : Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes

Organisme	Origine	VM [DO 450/620]
Adénovirus	Surnageant de culture	-0,010
Aeromonas hydrophila	Culture	-0,010
Astrovirus	Surnageant de culture	-0,006
Bacillus cereus	Culture	-0,012
Bacteroides fragilis	Culture	-0,004
Campylobacter coli	Culture	-0,008
Campylobacter jejuni	Culture	-0,011
Candida albicans	Culture	-0,007
Citrobacter freundii	Culture	-0,006
Clostridium bifermentans	Culture	-0,004
Clostridium difficile	Culture	3,472
Clostridium novyi	Culture	-0,007
Clostridium perfringens	Culture	-0,007
Clostridium sordellii	Culture	-0,009
Clostridium sporogenes	Culture	-0,011
Cryptosporidium muris	Culture	-0,005
Cryptosporidium parvum	Culture	-0,010
E. coli (O157:H7)	Culture	-0,006
E. coli (O26:H-)	Culture	-0,006
E. coli (O6)	Culture	-0,001
Entamoeba histolytica	Selles	-0,001
Enterobacter cloacae	Culture	-0,001
Enterococcus faecalis	Culture	-0,004
Giardia lamblia	Selles	0,001
Klebsiella oxytoca	Culture	-0,005
Norovirus Ag Desert Shield Virus	Capside	-0,004
Norovirus Ag Hawaii Virus	Capside	-0,004
Norovirus Ag md 14S	Capside	-0,008
Norovirus Ag Norwalk Virus	Capside	0,000
Norovirus Ag Snow Mountain Virus	Capside	-0,001
Norovirus Ag Toronto Virus	Capside	-0,005

Organisme	Origine	VM [DO 450/620]
Proteus vulgaris	Culture	-0,009
Pseudomonas aeruginosa	Culture	-0,015
Rotavirus	Surnageant de culture	-0,011
Salmonella enteritidis	Culture	-0,004
Salmonella typhimurium	Culture	-0,005
Serratia liquefaciens	Culture	-0,006
Shigella flexneri	Culture	-0,005
Staphylococcus aureus	Culture	-0,009
Staphylococcus epidermidis	Culture	-0,012
Vibrio parahaemolyticus	Culture	-0,009
Yersinia enterocolitica	Culture	-0,007

13.4 Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA a été étudiée en utilisant six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots. Pour ce qui est de la reproductibilité intra-test, les références de 10 jours de travail différents ont été mesurées en double, avec 2 passages par jour. Les mesures ont été effectuées en 3 lots par 4 techniciens. La reproductibilité inter-lots a été déterminée pour les 3 lots. Les résultats sont indiqués dans le tableau 6.

Tableau 6 : Résultats relatifs à la reproductibilité/précision du test
RIDASCREEN® Clostridium difficile GDH ELISA

Référence	Valeur moyenne/CV	Intra-test			Inter-test			Inter-lots
		Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lot de la trousse 1	Lot de la trousse 2	Lot de la trousse 3	Lots des trousse 1 à 3
1	VM	2,333	2,192	2,438	2,504	2,411	2,376	2,430
	CV (%)	8,10 %	6,71 %	4,23 %	5,65 %	7,84 %	8,14 %	7,59 %
2	VM	1,804	1,593	1,741	1,935	1,907	1,871	1,904
	CV (%)	5,24 %	6,73 %	5,34 %	6,82 %	9,26 %	9,29 %	8,51 %
3	VM	1,477	1,312	1,436	1,531	1,561	1,481	1,525
	CV (%)	7,74 %	8,91 %	6,88 %	7,91 %	10,95 %	9,64 %	9,76 %
4	VM	1,125	0,888	0,951	1,139	1,183	1,117	1,146
	CV (%)	8,25 %	8,24 %	8,55 %	8,05 %	11,49 %	11,55 %	10,67 %
5	VM	0,697	0,590	0,714	0,729	0,776	0,708	0,738
	CV (%)	8,06 %	10,13 %	13,78 %	9,88 %	11,51 %	13,59 %	12,38 %
6	VM	-0,003	-0,003	-0,007	0,008	-0,001	-0,002	0,002
	CV (%)	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o

13.5 Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont montré aucun effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans des échantillons de selles positifs et négatifs à *C. difficile* dans les concentrations indiquées :










Mucine	5,0 % p/p	Diclofénac	0,1 % v/p
Sang humain	5,0 % v/p	Cyclamate	1,3 % v/p
Sulfate de baryum	18,5 % p/p	Métronidazole	3,0 % p/p
Lopéramide	0,02 % p/p	Hémoglobine	5,0 % v/p
Pepto-bismol	6,3 % v/p	Vancomycine	3,0 % p/p
Acide stéarique/acide palmitique	40 % p/p (1/1)		

14 Historique des versions



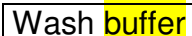


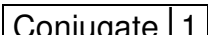
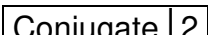
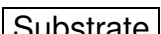

Numéro de version	Section et désignation
2017-04-20	Version précédente
2020-02-18	Révision générale 2 Résumé et explication du test 4 Contenu du paquet 5 Instructions de conservation des réactifs 8 Prélèvement et conservation des échantillons 9.2 Préparation du tampon de lavage 9.5. Lavage 9.8 Troisième incubation 10 Contrôle qualité – signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs 11 Évaluation et interprétation 13 Performances 15 Signification des symboles 16 Bibliographie

15 Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Utiliser avant le
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques des tests

	Plaque de microtitrage
	Tampon de dilution de l'échantillon 1
	Tampon de lavage
	Contrôle positif
	Contrôle négatif
	Conjugué 1
	Conjugué 2
	Substrat
	Réactif d'arrêt

16. Bibliographie

1. Lyerly, D.M. et al.: Clostridium difficile: Its disease and toxins. Clin. Microbiol. Rev. (1988); 1: 1-18.
2. Knoop, F.C. et al.: Clostridium difficile: Clinical disease and diagnosis. Clin. Microb. Rev. (1993); 6: 251-265.
3. Kelly, C.P. et al.: Clostridium difficile Colitis. New Engl. J. Med. (1994); 330: 257-262.
4. Sullivan, N.M. et al.: Purification and characterization of toxins A and B of Clostridium difficile. Infect. Immun. (1982); 35: 1032-1040.
5. Thomas, D.R. et al.: Postantibiotic colonization with Clostridium difficile in nursing home patients. J. Am Geriatr. Soc. 38, 415-420 (1990).
6. Bartlett, J.G.: Clostridium difficile: Clinical considerations. Rev. Infect. Dis. (1990); 12: 243-251.
7. Cefai, C. et al.: Gastrointestinal carriage rate of Clostridium difficile in elderly, chronic care hospital patients. J. Hosp. Infect. (1988); 11: 335-339.
8. Asha, N.J. et al.: Comparative analysis of prevalence, risk factors and molecular epidemiology of Antibiotic –associated diarrhea due to Clostridium difficile, Clostridium perfringens, and Staphylococcus aureus. J.Clin. Microbiol. (2006); 44: 2785-2791.
9. Voth, D.E., Ballard, J.: Clostridium difficile toxins: Mechanism of action and role in disease. J.Clin. Microbiol. (2005); 18: 247-263.
10. Borgmann, S. et al.: Increased number of Clostridium difficile infections and prevalence of Clostridium difficile PCR ribotype 001 in southern Germany. Eurosurveillance (2008); Vol 13: No.49.
11. Mc.Donald, L.C. et al.: An epidemic, toxin gene-variant strain of Clostridium difficile. N.Engl.J.Med. (2005); 353: 23.
12. Loo, V.G. et al.: A predominantly clonal multi-institutional outbreak of Clostridium difficile-associated diarrhea with high morbidity and mortality. N.Engl.J.Med. (2005); 353:23
13. Bartlett, J.G. , Gerding, D.N.: Clinical recognition and diagnosis of Clostridium difficile infection. CID (2008); 46(Suppl. 1): 12-18.
14. Kufelnicka, A.M. , Kirn, T.J.: Effective utilization of evolving methods for laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. Clin.Infect. Dis. (2011)52: 1451-1457
15. Riggs, M.S.A. et al.: Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic Clostridium difficile strains among long-term care facility residents. Clin. Infect. Dis.(2007)45:992-998
16. Lawson, P.A., et al.: Reclassification of Clostridium difficile as Clostridioides difficile (Hall and O'Toole 1935) Prévot 1938. Anaerobe (2016)40: 95-9
17. Oren, A. , Rupnik M.: Clostridium difficile and Clostridioides difficile: Two validly published and correct names. Anaerobe (2018)52:125-126.