

RIDA® GENE CD Toxin A/B

REF PG0825



1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le test RIDA[®] GENE CD Toxin A/B est un test de PCR en temps réel pour la détection qualitative directe des gènes des toxines A (tcdA) et B (tcdB) de *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles humaines et cultures. Le test de PCR en temps réel RIDA[®] GENE CD Toxin A/B est destiné à faciliter le diagnostic de la diarrhée associée à *Clostridium difficile* (CDAD).

2. Résumé et explication du test

Clostridium difficile, bactérie anaérobie, à Gram positif, génératrice de spores fut décrite pour la première fois en 1935 par Hall et O'Toole comme un composant de la microflore intestinale des nourrissons sains¹. Cependant, vers la fin des années 1970, *Clostridium difficile* fut identifiée comme étant une cause de diarrhée associée aux antibiotiques et de la colite pseudo-membraneuse². De nos jours, *Clostridium difficile* est l'une des causes les plus courantes de diarrhée nosocomiale.

Clostridium difficile est responsable de 15 à 25 % des cas de diarrhée associée aux antibiotiques et de quasiment tous les cas de colite pseudo-membraneuse³. Les facteurs de risque de la CDAD sont, par exemple, l'exposition aux antibiotiques, l'âge avancé et le nombre et la durée des hospitalisations. Cependant, les infections par *Clostridium difficile* surviennent aussi chez un nombre croissant de personnes non traitées par antibiotiques et non hospitalisées.

Les symptômes vont d'une légère diarrhée à des infections intestinales de sévérité variable, notamment la colite pseudo-membraneuse, forme la plus grave de maladie intestinale induite par les antibiotiques. Les cas cliniquement symptomatiques sont provoqués par des souches toxigènes de *Clostridium difficile* qui produisent la toxine A et la toxine B. Ces dernières années, l'incidence et la sévérité des infections par *Clostridium difficile* ont augmenté dans le monde entier.⁴

La PCR en temps réel permet une détection rapide, hautement sensible et spécifique des infections par *Clostridium difficile*. Un diagnostic précoce et fiable d'une infection par *Clostridium difficile* permet l'administration d'un traitement spécifique aux patients atteints de CDAD et la prise de mesures d'hygiène pour prévenir la transmission nosocomiale.

3. Principe du test

Le test RIDA[®]GENE CD Toxin A/B est un test de PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe des gènes des toxines A (tcdA) et B (tcdB) de *Clostridium difficile* dans les échantillons et cultures de selles humaines.

Après isolation de l'ADN, on procède à l'amplification des fragments de gène spécifiques aux toxines A et B de *Clostridium difficile* (si présentes). Les cibles d'ADN amplifiées sont détectées grâce à des sondes pour hydrolyse qui sont marquées à une extrémité par un extincteur et à l'autre extrémité par un colorant fluorescent indicateur (fluorophore). En présence d'une cible, les sondes s'hybrident aux amplicons. Pendant l'étape d'extension, la Taq-Polymerase rompt la proximité indicateur-extincteur. L'indicateur émet un signal de fluorescence qui est détecté par l'unité optique d'un instrument de PCR en temps réel. Le signal de fluorescence augmente avec le nombre d'amplicons formés. Le test RIDA[®]GENE CD Toxin A/B contient un Internal Control DNA (ICD) en tant que contrôle interne de la procédure de préparation des échantillons et/ou pour déterminer une éventuelle inhibition de la PCR.

4. Contenu du paquet

Tableau 1 : Contenu du paquet (les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 100 déterminations)

Code du kit	Réactif	Quantité		Couleur du couvercle
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	jaune
2	Taq-Polymerase	1x	80 µl	rouge
D	Internal Control DNA	2x	1700 µl	orange
N	No Template Control	1x	450 µl	blanc
P	Positive Control	1x	200 µl	bleu

5. Instructions de conservation des réactifs

- Protéger tous les réactifs de la lumière et les conserver à -20 °C. Tous les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.
- Décongeler délicatement tous les réactifs avant de les utiliser (par ex., dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- Les réactifs peuvent supporter jusqu'à 20 cycles de congélation/décongélation sans que la performance du test ne soit affectée (par ex., après la première décongélation, séparer les réactifs en aliquotes et les congeler immédiatement).

- Pendant la préparation de la PCR, tous les réactifs doivent être conservés au frais de manière convenable (entre 2 et 8 °C).

6. Autres réactifs et matériel nécessaires

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA[®]GENE CD Toxin A/B peut être utilisé avec les plateformes d'extraction et les instruments de PCR en temps réel suivants :

Tableau 2 : Matériel nécessaire

Plateforme d'extraction	
R-Biopharm	RIDA [®] Xtract
Promega	Maxwell [®] RSC
bioMérieux	NucliSENS easy [®] MAG [™]
Instrument de PCR en temps réel :	
Roche	LightCycler [®] 2.0, LightCycler [®] 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96 [™]
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Remarque : utiliser uniquement des tubes de 0,1 ml sur le Rotor-Gene Q (QIAGEN).

Si vous souhaitez utiliser d'autres plateformes d'extraction ou instruments de PCR en temps réel, contactez R-Biopharm à l'adresse mdx@r-biopharm.de.

- RIDA[®]GENE Color Compensation II (PG0002) pour une utilisation avec l'appareil LightCycler[®] 2.0
- RIDA[®]GENE Color Compensation IV (PG0004) pour une utilisation avec l'appareil LightCycler[®] 480II
- Consommables de PCR en temps réel (plaques, tubes, feuilles)
- Centrifugeuse avec rotor pour les flacons de réaction
- Agitateur-mélangeur vortex
- Pipettes (0,5 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)
- Pointes à filtre
- Gants jetables sans poudre
- Eau de PCR (qualité BioScience, sans nucléase)

7. Mesures de précaution

Pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être réalisé que par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Suivre le manuel d'instructions pour la réalisation du test. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec une peau meurtrie ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation de réactifs ou d'échantillons, porter des vêtements de protection appropriés (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue de la réalisation du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs sont utilisés.

- L'extraction, la préparation de la PCR et l'exécution de la PCR doivent être menées dans des salles différentes afin d'éviter toute contamination croisée.
- Les échantillons doivent être traités comme du matériel potentiellement infectieux de même que tous les réactifs et le matériel exposés aux échantillons. Ils doivent être manipulés conformément aux règlements nationaux en matière de sécurité.
- Ne pas utiliser le kit après sa date de péremption.

Après utilisation, tous les réactifs et matériaux utilisés doivent être éliminés de façon appropriée. Veuillez vous conformer aux règlements nationaux applicables concernant la mise au rebut.

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

8. Prélèvement et conservation des échantillons

8.1 Préparation de l'échantillon à partir d'échantillons de selles

Pour isoler l'ADN des échantillons de selles humaines, utiliser un kit d'isolation d'ADN (par ex., RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) ou un système d'extraction d'ADN (par ex., Maxwell[®] RSC (Promega)) disponible dans le commerce. Extraire l'ADN conformément aux instructions du fabricant.

Il convient de diluer les échantillons de selles avant extraction avec de l'eau selon un rapport de 1/3. Agiter fortement l'échantillon de selles dilué et le centrifuger à 1 000 x g pendant 30 s. Utiliser le volume adéquat du surnageant conformément aux instructions du fabricant.

Le test RIDA[®] GENE CD Toxin A/B inclut un ADN de contrôle interne

Internal Control DNA qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir tableau 4).

Si le **Internal Control DNA** est utilisé comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'ajouter 20 µl de **Internal Control DNA** pendant la procédure d'extraction. L'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA** au mélange de contrôle négatif et contrôle positif de la PCR.

8.2 Préparation des échantillons à partir des cultures

Pour isoler l'ADN de la culture, il est recommandé de suivre la procédure suivante : Ajouter 1 ml d'eau de PCR dans un tube de préparation. Recueillir les colonies à l'aide d'une anse de prélèvement et les suspendre dans l'eau de PCR préparée. Couper ou casser la tige de l'anse de prélèvement. Fermer hermétiquement le tube de préparation et l'agiter vigoureusement pendant 60 secondes. Chauffer et agiter le tube de préparation à 95 °C pendant 10 min dans un bloc chauffant. Centrifuger pendant 1 min à 13 000 x g et recueillir le surnageant en tant qu'échantillon.

Remarque : en présence d'une forte turbidité, recommencer l'étape de centrifugation (si nécessaire).

Le test RIDA® GENE CD Toxin A/B inclut un **Internal Control DNA** qui détecte l'inhibition de la PCR, surveille l'intégrité du réactif et confirme que l'extraction d'acides nucléiques a été suffisante. L'**Internal Control DNA** peut être utilisé comme contrôle de l'inhibition de la PCR ou comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et en tant que contrôle de l'inhibition de la PCR.

Si l'**Internal Control DNA** est utilisé uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange maître (voir tableau 4).

S'il est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon **et** comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 20 µl pendant la procédure d'extraction.

L'**Internal Control DNA** doit toujours être ajouté au mélange spécimen-tampon de lyse et **non** directement à l'échantillon. Il est aussi recommandé d'ajouter 1 µl d'**Internal Control DNA** au mélange de contrôle négatif et contrôle positif de la PCR.

9. Réalisation du test

9.1 Préparation du mélange maître

Calculer le nombre total de réactions de PCR (réactions de l'échantillon et réactions de contrôle) nécessaires. Il faut inclure un contrôle positif et un contrôle négatif dans chaque exécution du test.

Nous recommandons de calculer un volume supplémentaire de 10% pour compenser l'imprécision du pipetage (voir tableaux 3, 4). Décongeler, mélanger délicatement et centrifuger brièvement le mélange réactif [Reaction Mix], la [Taq-Polymerase], le contrôle positif [Positive Control], le contrôle sans matrice [No Template Control] et l'ADN de contrôle interne [Internal Control DNA] avant utilisation. Conserver les réactifs à une température assez basse durant l'étape de travail (entre 2 et 8 °C).

Tableau 3 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD comme contrôle de l'extraction et de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	[Reaction Mix]	19,3 µl	212,3 µl
2	[Taq-Polymerase]	0,7 µl	7,7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

Tableau 4 : Calcul et exemple de pipetage pour 10 réactions du mélange maître (ICD uniquement comme contrôle de l'inhibition de la PCR)

Code du kit	Composants du mélange maître	Volume par réaction	10 réactions (10 % de plus)
1	[Reaction Mix]	19,3 µl	212,3 µl
2	[Taq-Polymerase]	0,7 µl	7,7 µl
D	[Internal Control DNA]	1,0 µl	11 µl
	Total	21,0 µl	231,0 µl

Mélanger les composants du mélange maître et les centrifuger brièvement.

9.2 Préparation du mélange pour la PCR

Pipeter 20 µl du mélange maître dans chaque flacon de réaction (tube ou plaque).

Contrôle négatif : Ajouter 5 µl de [No Template Control] au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si l'ADN de contrôle interne Internal Control DNA est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle négatif pour la PCR.

Échantillon : Ajouter 5 µl d'extrait d'ADN au mélange maître pré-pipeté.

Contrôle positif : Ajouter 5 µl de Positive Control au mélange maître pré-pipeté.

Remarque : si l'ADN de contrôle interne Internal Control DNA est utilisé à la fois comme contrôle de l'extraction pour la procédure de préparation de l'échantillon et comme contrôle de l'inhibition de la PCR, il convient d'en ajouter 1 µl au mélange de contrôle positif pour la PCR.

Recouvrir les tubes ou la plaque. Les centrifuger et les placer dans l'instrument de PCR en temps réel. La réaction de PCR devrait commencer conformément à la configuration de l'instrument de PCR (tableaux 5, 6, 7, 8).

9.3 Configuration de l'instrument de PCR

9.3.1 Profil de PCR en temps réel de l'ADN

Tableau 5 : Profil de PCR en temps réel de l'ADN pour la série LightCycler® et Rotor-Gene Q

Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	10 s, 95 °C
Hybridation/extension	15 s, 60 °C
Vitesse de transition de température / Vitesse de montée	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 6 : Profil de PCR en temps réel de l'ADN pour Mx3005P, ABI 7500 et CFX96™

Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	15 s, 95 °C
Hybridation/extension	30 s, 60 °C
Vitesse de transition de température / Vitesse de montée	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.3.2 Profil universel de PCR en temps réel

Remarque : le profil universel de PCR en temps réel doit seulement être utilisé pour les tests d'ADN si les tests PCR en temps réel ADN RIDA® GENE et ARN RIDA® GENE sont effectués lors d'une même exécution.

Tableau 7 : Profil universel de PCR en temps réel pour la série LightCycler®

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	10 s, 95 °C
Hybridation/extension	15 s, 60 °C
Vitesse de transition de température / Vitesse de montée	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 8 : Profil universel de PCR en temps réel pour Mx3005P, ABI 7500, Rotor-Gene Q et CFX96™

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	15 s, 95 °C
Hybridation/extension	30 s, 60 °C
Vitesse de transition de température / Vitesse de montée	Maximale

Remarque : l'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.4 Configuration du canal de détection

Tableau 9 : Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Remarque
Roche LightCycler® 2.0	Toxine A/B de <i>Clostridium difficile</i>	530	Le RIDA® GENE Color Compensation Kit II (PG0002) est nécessaire
	ICD	560	
Roche LightCycler® 480II	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	465/510	Le RIDA® GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) est nécessaire
	ICD	533/580	
ABI 7500	Toxine A/B de <i>Clostridium difficile</i>	FAM	Vérifier que l'option de référence passive ROX n'est pas sélectionnée
	ICD	VIC	
Agilent Techn. Mx3005P	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	FAM	Vérifier que le colorant de référence n'est pas précisé
	ICD	HEX	
Qiagen Rotor-Gene Q	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B	Vert	Les paramètres de gain doivent être réglés sur 5, conformément aux paramètres par défaut
	ICD	Jaune	
Bio-Rad CFX96™	Toxine A/B de <i>Clostridium difficile</i>	FAM	-
	ICD	VIC	

10. Contrôle qualité

L'analyse des échantillons est effectuée par le logiciel de l'instrument de PCR en temps réel utilisé conformément aux instructions du fabricant. Le contrôle positif et le contrôle négatif doivent afficher des résultats corrects (voir tableau 10, figure 1) afin de déterminer qu'une série est valide.

Le **Positive Control** CD Toxin A/B a une concentration de 10^3 copies/ μ l. Chaque série de PCR utilise au total 5×10^3 copies de contrôle positif.

Tableau 10 : Pour que l'exécution soit valide, les conditions suivantes doivent être satisfaites :

Échantillon	Résultat du test	Ct ICD	Ct cible
Positive control	Positif	S/O * ¹	Voir Certificat d'assurance qualité
Negative control	Négatif	Ct > 20	0

*¹ Aucune valeur de Ct n'est requise pour que le résultat de l'ICR soit positif pour le contrôle positif.

Si le contrôle positif n'est pas positif dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, préparer des réactions entièrement neuves y compris les contrôles.

Si les critères requis ne sont pas satisfaits, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Fonctionnement de l'instrumentation utilisée
- Exécution correcte de la procédure de test

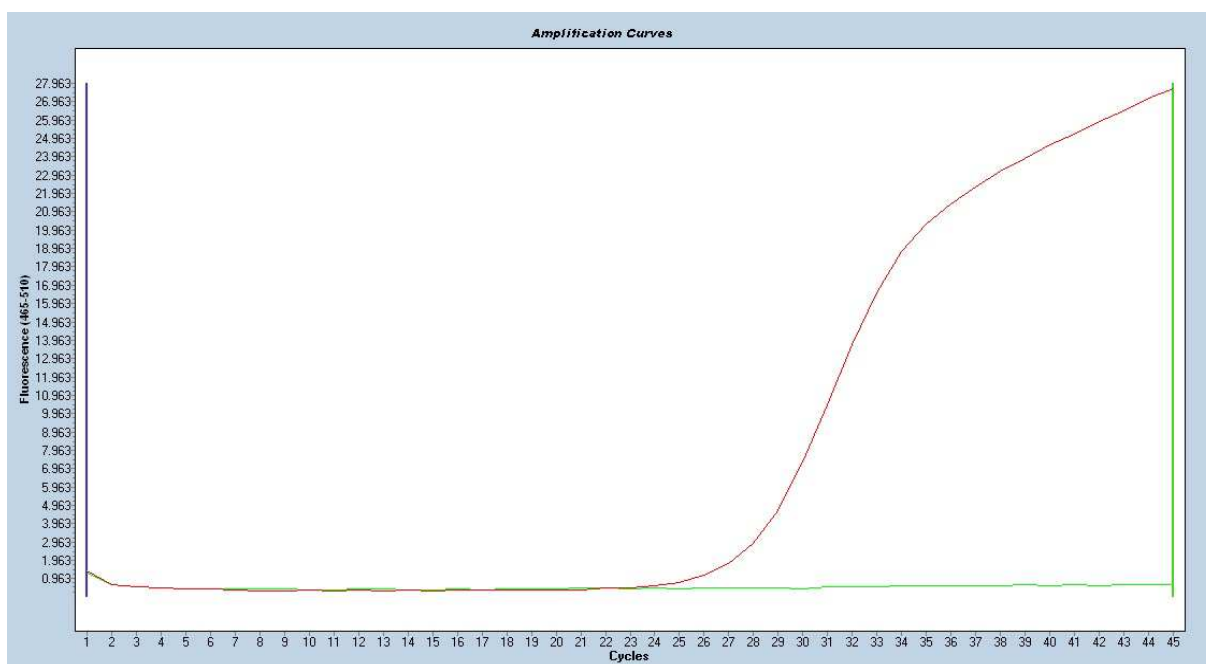


Figure 1 : Exécution correcte des contrôles positif et négatif (gènes des toxines A/B de *C. difficile*) sur le LightCycler® 480II

11. Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés conformément au tableau 11.

Tableau 11 : Interprétation des échantillons

Gènes cibles		
Gènes des toxines A/B de <i>C. difficile</i>	ICD	Résultat
positif	positif/négatif	Gènes des toxines A/B de <i>C. difficile</i> détectés
négatif	positif	Gènes cibles non détectés
négatif	négatif	Non valide

Les gènes des toxines A/B de *C. difficile* sont détectés si l'ADN de l'échantillon et le **Internal Control DNA** présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Les gènes des toxines A/B de *C. difficile* sont également détectés si l'ADN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais aucun pour le **Internal Control DNA**. La détection du contrôle d'amplification interne n'est pas nécessaire, car les concentrations élevées de l'amplicon peuvent générer un signal faible ou absent de l'ADN de contrôle interne **Internal Control DNA**.

Les gènes des toxines A/B de *C. difficile* ne sont pas détectés si l'ADN de l'échantillon ne présente aucun signal d'amplification dans le système de détection, mais en présente un pour le **Internal Control DNA**. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection de l'ADN du contrôle interne **Internal Control DNA**.

Un échantillon est non valide si l'ADN de l'échantillon et l'ADN du contrôle interne **Internal Control DNA** ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. L'échantillon contient un inhibiteur de la PCR ou la procédure d'extraction est défectueuse. L'échantillon extrait doit être encore dilué avec de l'eau de PCR (1/10) et de nouveau amplifié, ou il convient d'améliorer l'isolation et la purification de l'échantillon.

12. Limites de la méthode

1. Le résultat de l'analyse moléculaire ne doit pas mener au diagnostic, mais toujours être envisagé dans le contexte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
2. Ce test est uniquement validé pour les échantillons de selles et de cultures.
3. Un prélèvement, transport, stockage et traitement incorrects du spécimen ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
4. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats non valides.
5. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison à l'amorce ou à la sonde peuvent empêcher la détection de nouveaux variants et donner lieu à un résultat faux négatif avec le test RIDA[®] GENE CD Toxin A/B.
6. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* de type PCR, des niveaux de la cible extrêmement bas sous la limite de détection (LDD) peuvent être détectés, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
7. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Cependant, un résultat positif indique la présence des gènes des toxines A/B (tcdA/tcdB) de *C. difficile*.

13. Performances

13.1 Sensibilité analytique

La limite de détection du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE CD Toxin A/B est ≥ 10 copies d'ADN par réaction.

La figure 2 ci-dessous présente une série de dilutions des gènes des toxines A/B de *C. difficile* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl chacune) avec le LightCycler® 480II.

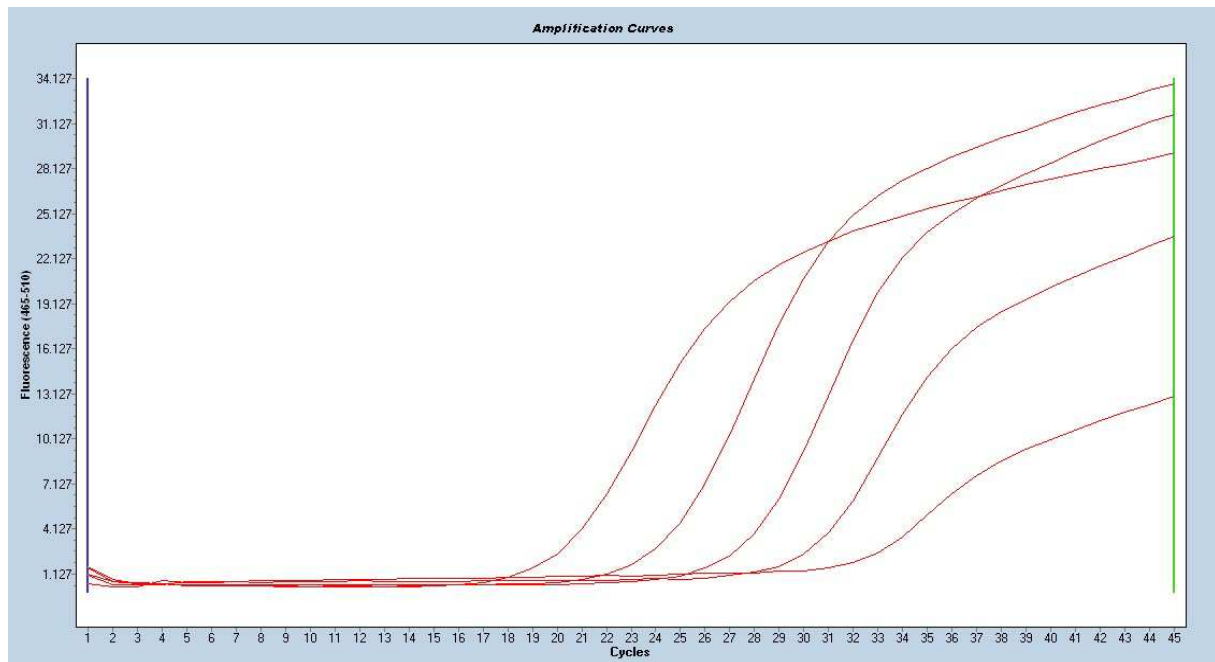


Figure 2 : Série de dilutions des gènes des toxines A/B de *C. difficile* ($10^5 - 10^1$ copies d'ADN par μl) avec le LightCycler® 480II

La limite de détection de l'ensemble de la procédure dépend de la matrice de l'échantillon, de l'extraction de l'ADN et de la concentration de l'ADN.

13.2 Spécificité analytique

Le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE CD Toxin A/B est spécifique à *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles humaines. Aucune réaction croisée n'a pu être détectée pour les espèces suivantes (voir tableau 12) :

Tableau 12 : Test de la réactivité croisée

Adénovirus 1, humain, souche Adénoïde 71	-	<i>Clostridium bifermentans</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-
Adénovirus 7, humain, souche Gomen	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-
Adénovirus 40, humain, souche Dugan	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	Norovirus GI	-
Adénovirus 41, humain, souche Tak	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	Norovirus GII	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Astrovirus	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Rotavirus	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>E.coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E.coli</i> (O26:H-)	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Campylobacter fetus</i> sous-esp. <i>fetus</i>	-	<i>E.coli</i> (O6)	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Campylobacter lari</i> sous-esp. <i>lari</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone 6	-		

13.3 Réactivité analytique

La réactivité du test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE CD Toxin A/B a été étudiée avec *Clostridium difficile* (voir tableau 13). Toutes les souches testées de *Clostridium difficile* ont été détectées par le test de PCR en temps réel multiplexe RIDA® GENE CD Toxin A/B ou par alignement de séquences.

Tableau 13 : Test de la réactivité analytique










<i>Clostridium difficile</i>					
<i>C. difficile</i> ribotype 001	+	<i>C. difficile</i> ribotype 023	+	<i>C. difficile</i> ribotype 075	+
<i>C. difficile</i> ribotype 002	+	<i>C. difficile</i> ribotype 027	+	<i>C. difficile</i> ribotype 078	+
<i>C. difficile</i> ribotype 012	+	<i>C. difficile</i> ribotype 046	+	<i>C. difficile</i> ribotype 0126	+
<i>C. difficile</i> ribotype 017	+	<i>C. difficile</i> ribotype 056	+	<i>C. difficile</i> ribotype 0131	+
<i>C. difficile</i> ribotype 020	+				
<i>C. difficile</i> toxinotype 0	+	<i>C. difficile</i> toxinotype X	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype I	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype II	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIId	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IIIc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IV	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXVIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype V	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIVa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXIX	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VI	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIVb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXX	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVI	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXI	+
<i>C. difficile</i> toxinotype VIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXa	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XVIII	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXIII	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXb	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XIX	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XXXIV	+
<i>C. difficile</i> toxinotype IXc	+	<i>C. difficile</i> toxinotype XX	+		

14. Historique des versions

Numéro de version	Chapitre et désignation
29/01/2013	Version pour la publication
22/05/2018	Révision générale
22/05/2018	4. Contenu du paquet 5. Instructions de conservation des réactifs 6. Autres réactifs et matériel nécessaires 8. Prélèvement et conservation d'échantillons 9. Réalisation du test 10. Contrôle qualité 13. Performances 14. Historique des versions 15. Signification des symboles

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques au test

Sans objet

16. Bibliographie

1. Hall IC and O'Toole E. Intestinal flora in new-born infants: with a description of a new pathogenic anaerobe, *Bacillus difficilis*. *Am J Dis Child* 1935, 49: 390–402.
2. Bartlett JG, et al. Antibiotica-associated pseudomembranous colitis due to a toxin-producing clostridia. *N Engl J Med*, 1978; 298:531-543.
3. Bartlett JG and Gerding DN. Clinical Recognition and Diagnosis of *Clostridium difficile* Infection. *CID* 2008, 46: S12-18.
4. Bartlett JG. Narrative Review: The new Epidemic of *Clostridium difficile*-Associated Enteric Disease. *Ann Intern Med* 2006; 145:758-764.