

# RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin

Réf. : C0601



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Allemagne  
Téléphone : +49 (0) 61 51 - 81 02-0 / Fax : +49 (0) 61 51 - 81 02-20



## 1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test immunoenzymatique RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin permet l'identification qualitative des entérotoxines de *Clostridium perfringens* dans des échantillons de selles humaines.

## 2. Résumé et explication du test

Les bactéries *Clostridium perfringens*, comme toutes les autres espèces de Clostridium sont des bactéries anaérobies omniprésentes, à Gram positif et génératrices de spores régulièrement présentes dans la flore du gros intestin de l'humain. C'est l'absence de flagelle péritriche qui permet de les différencier des autres espèces de Clostridium. On distingue cinq souches de *Clostridium perfringens* (types A à E). La souche de type A est la plus importante pour l'humain avec celle du type C qui provoque l'entérite nécrotique sous certaines conditions (régime alimentaire, carence en trypsine). Les cinq souches sont présentes chez les animaux.

Ces groupes sont classés en fonction de la production de quatre toxines majeures (alpha, bêta, epsilon, iota) qui ont toutes des effets cytotoxiques et nécrosants. En plus de ces quatre toxines majeures, certaines souches de *C. perfringens* produisent plusieurs autres toxines, dont l'entérotoxine (un polypeptide de 35 kDa) qui est importante du fait de sa pathogénicité pour l'humain.

La bactérie *C. perfringens* peut être ingérée en grandes quantités en consommant des aliments mal conservés, précuits en particulier. Ces bactéries produisent de grandes quantités d'entérotoxines de *C. perfringens* (ECP) provoquant des maladies intestinales qui s'accompagnent de diarrhée et de crampes d'estomac. Les signes et les symptômes commencent environ 8 à 24 heures après l'ingestion d'aliments contaminés et diminuent 24 heures plus tard. La maladie n'est que rarement accompagnée de vomissements, fièvre et céphalées. En plus de l'intoxication alimentaire, *C. perfringens* est responsable d'environ 10 % des cas de diarrhée associée aux antibiotiques (DAA), ainsi que de 5 à 20 % des cas de diarrhée sporadique (SPOR) qui ne sont pas dus à une intoxication alimentaire. Cette forme de diarrhée peut aller jusque prendre la forme de colite pseudo-membraneuse (CPM), maladie bien plus grave et d'une plus grande durée (10 à 30 jours) s'accompagnant souvent de présence de sang et de mucus dans les selles. L'examen histologique des biopsies des parties inférieures du gros intestin et du rectum révèle des zones œdémateuses à côté des lésions provoquées par les ECP.

Des études récentes ont démontré que le code des entérotoxines peut se trouver dans les chromosomes (intoxication alimentaire) ou les épisomes (DAA et SPOR).

Le test RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin forme avec le test RIDASCREEN® Clostridium difficile Toxin A/B un système d'identification important permettant d'élucider les causes de diarrhées associées aux antibiotiques et de diarrhées sporadiques. Cet outil qui permet un diagnostic rapide et fiable est une aide précieuse dans le processus de décision thérapeutique.

### 3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® *Clostridium perfringens* Enterotoxin utilise des anticorps spécifiques en appliquant une méthode de type sandwich. Des anticorps monoclonaux visant les épitopes de l'entérotoxine de *C. perfringens* se fixent sur la surface des puits de la microplaque. Une suspension de l'échantillon de selles à examiner ainsi que des contrôles sont pipetés ensemble avec des anticorps anti-entérotoxine biotinylés (conjugué 1) dans le puits de la microplaque, 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). Si l'entérotoxine est présente dans l'échantillon de selles, les anticorps immobilisés, l'entérotoxine et les anticorps conjugués forment un complexe sandwich. Le conjugué polyperoxydase-streptavidine non lié est éliminé au cours d'une autre étape de lavage. Dans les échantillons positifs, l'ajout d'un substrat modifie l'enzyme liée dans la solution incolore qui vire au bleu. L'ajout d'un réactif d'arrêt fait virer la couleur du bleu au jaune. L'extinction est proportionnelle à la concentration des ECP présents dans l'échantillon.

### 4. Réactifs fournis

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

Plate	96	Microplaque, 12 barrettes à micropuits (sécables) sur le support, revêtue d'anticorps monoclonaux ciblant spécifiquement l'entérotoxine de <i>Clostridium perfringens</i>
Diluent   1	100 ml	Tampon de dilution d'échantillon, solution de NaCl tamponnée à la protéine ; prêt à l'emploi, de couleur bleue
Wash	100 ml	Tampon de lavage, solution de NaCl tamponnée au phosphate (concentrée 10 fois), contient 0,1 % de thimérosal
Control   +	2 ml	Contrôle positif, entérotoxine inactivée, prêt à l'emploi
Control   -	2 ml	Contrôle négatif (tampon de dilution d'échantillon), prêt à l'emploi
Conjugate   1	13 ml	Anticorps anti-entérotoxine conjugués à la biotine dans une solution protéique stabilisée, prêts à l'emploi, de couleur bleue
Conjugate   2	13 ml	Conjugué polyperoxydase-streptavidine dans une solution protéique stabilisée ; prêt à l'emploi, de couleur orangee
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

## 5. Les réactifs et leur stockage

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. Le tampon de lavage dilué peut être conservé entre 2 et 8 °C pendant 4 semaines maximum. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie.

Le sachet en aluminium doit être ouvert à l'aide de ciseaux sans déchirer le joint d'étanchéité. Les barrettes à micropuits qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement 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. Autres réactifs et matériels nécessaires

### 6.1. Réactifs fournis

- Eau distillée ou désionisée

### 6.2. Équipement

- Tubes à essai
- 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 microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour microplaques (450 nm et filtre de référence à 620-650 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets

## 7. Précautions à prendre par l'utilisateur

Uniquement 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. 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) disponibles à l'adresse [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com). La trousse comprend un contrôle positif qui contient l'entérotoxine inactivée. Tout comme les échantillons de selles, il doit être traité comme du matériel potentiellement infectieux et manipulé conformément aux règlements de sécurité nationaux.

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

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

Avant utilisation, entreposer le matériel de test 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 les échantillons plusieurs fois. Après dilution d'un échantillon de selles dans un tampon de dilution d'échantillon à 1/11, l'échantillon peut être conservé à 4 °C pour être utilisé dans les sept jours qui suivent.

Les échantillons de selles et les frottis rectaux ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin. Les échantillons de selles conditionnés dans les milieux de transport disponibles dans le commerce (Cary Blair, Amies) peuvent être utilisés avec le test RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin. Cependant, il faut tenir compte de l'étape requise de prédilution de l'échantillon. Dans la mesure du possible, la concentration de la dilution finale de l'échantillon de selles dans le Diluent 1 doit être précisément de 1/11.

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. Procédures de test

### 9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la microplaque Plate doivent être ramenés à température ambiante (20 à 25 °C) avant utilisation. Les barrettes à micropuits ne doivent pas être retirées du sachet en aluminium avant d'avoir atteint la température ambiante. Les réactifs doivent être bien

mélangés immédiatement avant leur utilisation. Après utilisation, les barrettes à micropuits (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes à micropuits ne doivent pas être réutilisées. Les réactifs et les barrettes à micropuits ne doivent pas être utilisés si l'emballage est endommagé ou si les flacons 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 microplaque 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** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts au préalable, en les réchauffant dans un bain d'eau à 37 °C.

## 9.3 Préparation des échantillons

Remplir un tube à essai marqué avec 1 ml de tampon de dilution des échantillons **Diluent | 1** de RIDASCREEN®. 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. Pour obtenir une suspension avec des selles dures, ajouter une quantité équivalente de selles (100 mg) prélevée à l'aide d'une spatule ou d'une anse de prélèvement à usage unique.

Homogénéiser la suspension de selles par aspiration, puis éjection avec une pipette à usage unique ou par mélange dans un agitateur-mélangeur vortex. Laisser la suspension reposer pendant une courte période pour laisser aux particules grossières de selles le temps de se déposer ; le liquide clair surnageant la suspension de selles peut être directement utilisé 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 à 2 500 G pendant 5 minutes est recommandée.

### Remarque :

Les échantillons de selles dilués dans le **Diluent | 1** peuvent être utilisés par tout autre test RIDASCREEN®, à condition que celui-ci 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 de l'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

Un lavage soigneux est important afin d'obtenir des résultats corrects ; il convient donc de suivre les instructions fournies 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. Retourner ensuite la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité résiduelle. Laver ensuite la plaque cinq fois systématiquement avec 300 µl de tampon de lavage. S'assurer que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur un morceau de papier absorbant encore sec et inutilisé.

**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. 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 paragraphe 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 tous les puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Remplir ensuite tous les puits avec 50 µl de réactif d'arrêt **Stop** afin d'arrêter la réaction. Après un mélange soigneux en tapotant légèrement le côté de la plaque, mesurer l'extinction à 450 nm (en variante : à 450/620 nm). Le réglage de la valeur nulle doit s'effectuer dans l'air, et donc sans la microplaque.

### **Remarque :**

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

## 10. Contrôle qualité – signes de réactif périmé

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 réalisation correcte du test et la stabilité des

réactifs. Le test s'est déroulé correctement lorsque la valeur d'extinction (DO) du contrôle négatif à 450 nm est inférieure à 0,2 (inférieure à 0,160 à 450/620 nm) et lorsque la valeur mesurée du contrôle positif est supérieure à 0,8 à 450 nm ou à 450/620 nm. Une valeur supérieure à 0,2 (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
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Procédure de test correcte
- Inspection visuelle des composants de la trousse 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 0,15 unité d'extinction à l'extinction mesurée du contrôle négatif.

$$\text{Valeur seuil} = \text{valeur d'extinction du contrôle négatif} + 0,15$$

### 11.2. Résultats du test

Un échantillon est estimé comme étant **positif** lorsque sa valeur d'extinction est supérieure de plus de 10 % à la valeur seuil calculée.

Un échantillon est estimé comme étant **limite** si sa valeur d'extinction se situe dans une plage allant de -10 % à +10 % de la valeur seuil. Si un nouvel examen utilisant un nouvel échantillon de selles obtient une valeur comprise dans cette même plage d'ombre, l'échantillon est considéré comme étant négatif.

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

## 12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin permet d'identifier l'entérotoxine de



*Clostridium perfringens* dans des 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. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

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

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection due à *Clostridium perfringens*. Un tel résultat peut être causé par la dégradation protéolytique des entérotoxines dans l'échantillon en raison de mauvaises conditions de conservation. Si l'anamnèse est en faveur d'une suspicion d'infection par *Clostridium perfringens*, un autre prélèvement de selles doit être examiné.

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

### 13. Performances

#### 13.1. Comparaison des méthodes pour définir la limite de détection

Pour déterminer la limite de détection, une solution-mère de l'entérotoxine (10 µg/ml) a été titrée dans chaque tampon de solution d'échantillon correspondant, puis appliquée dans un test RIDASCREEN® *Clostridium perfringens* Enterotoxin ainsi que dans un test ELISA de la concurrence disponible dans le commerce. Les concentrations de la toxine dans les résultats des deux tests ELISA sont indiquées dans le tableau 1.

Tableau 1 : Comparaison de deux tests ELISA pour l'identification de l'entérotoxine de *Clostridium perfringens*.

ECP (ng/ml)	10	5	2,5	1,25	0,625	0,312	0,156	0,078	0,039	0,019
RIDASCREEN®	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
autre test ELISA	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-

Le test RIDASCREEN® *Clostridium perfringens* ELISA peut détecter 0,04 ng/ml d'entérotoxine pure et est donc 60 fois plus sensible que le test ELISA de la concurrence disponible dans le commerce.

#### 13.2. Étude de comparaison clinique

Divers micro-organismes pathogènes du tractus intestinal ont été examinés avec le test RIDASCREEN® *Clostridium perfringens* Enterotoxin ELISA et n'ont pas présenté de réactivité croisée. Ces tests ont été réalisés avec des suspensions de bactéries ( $10^6$  à  $10^9$  ufc/ml), avec des

cultures de parasites ( $10^7$  à  $10^9$  organismes/ml) et avec des cultures de cellules infectées par le virus. Les résultats de cette étude sont indiqués dans le tableau 2.

Tableau 2 : Réactivité croisée avec des micro-organismes pathogènes du tractus intestinal

Organisme	Résultat [DO 450 nm]
Adénovirus	0,050
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0,046
<i>Bacillus cereus</i>	0,054
<i>Bacteroides fragilis</i>	0,053
<i>Campylobacter coli</i>	0,060
<i>Campylobacter fetus</i>	0,055
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,053
<i>Campylobacter lari</i>	0,060
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	0,051
<i>Candida albicans</i>	0,052
<i>Citrobacter freundii</i>	0,052
<i>Clostridium bifermentans</i>	0,044
<i>Clostridium difficile</i>	0,044
<i>Clostridium novyi</i>	0,049
<i>Clostridium perfringens</i>	0,046
<i>Clostridium septicum</i>	0,050
<i>Clostridium sordellii</i>	0,049
<i>Clostridium sporogenes</i>	0,060
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0,053
<i>E. coli</i> (O26:H-)	0,049
<i>E. coli</i> (O6)	0,045
<i>E. coli</i> (O157:H7)	0,044
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,051
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,050
<i>Giardia lamblia</i>	0,052
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,046
<i>Proteus vulgaris</i>	0,046
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,051
Rotavirus	0,080
<i>Salmonella enteritidis</i>	0,044
<i>Salmonella typhimurium</i>	0,045
<i>Serratia liquefaciens</i>	0,044
<i>Shigella flexneri</i>	0,043
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,054

<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,043
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0,044
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0,046

#### 13.4. Précision

La reproductibilité du test RIDASCREEN® Clostridium perfringens Enterotoxin a été étudiée avec six références qui couvrent l'ensemble de la plage de mesure des valeurs faiblement à fortement positives. Afin de déterminer la reproductibilité intra-test, 40 répétitions de ces références ont été mesurées, couvrant l'ensemble de la plage de mesure des valeurs négatives à fortement positives. Les valeurs moyennes et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés pour trois lots. Pour ce qui est de la reproductibilité inter-tests, les références de dix jours de travail différents ont été mesurées en double, avec deux passages par jour. Les mesures ont été effectuées en trois lots de trousse par deux techniciens. La reproductibilité inter-lots a été déterminée sur les trois lots de trousse.

Référence Valeur moyenne/CV	Intra-test			Inter-tests			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 trousses 1 à 3
1	1,966 / 7,55%	1,941 / 5,38%	1,882 / 6,66%	2,199 / 13,16%	1,917 / 12,10%	1,735 / 12,11%	1,951 / 17,21%
2	0,948 / 5,40%	0,927 / 7,37%	0,813 / 7,77%	1,114 / 14,72%	0,966 / 11,98%	0,843 / 14,31%	0,974 / 19,46%
3	0,494 / 9,34%	0,484 / 7,56%	0,459 / 6,20%	0,551 / 13,55%	0,495 / 11,04%	0,416 / 15,15%	0,487 / 19,09%
4	0,361 / 9,94%	0,405 / 8,33%	0,320 / 6,43%	0,423 / 23,05%	0,382 / 13,94%	0,322 / 15,50%	0,376 / 22,79%
5	0,184 / 11,44%	0,197 / 5,88%	0,143 / 11,60%	0,199 / 16,92%	0,183 / 14,92%	0,143 / 15,20%	0,175 / 22,55%
6	0,046 / 8,79%	0,054 / 6,69%	0,048 / 17,25%	0,054 / 20,07%	0,053 / 16,00%	0,050 / 7,88%	0,052 / 15,68%

#### 14. Substances interférentes

Les substances mentionnées ci-dessous n'ont pas présenté d'effet sur les résultats du test lorsqu'elles ont été mélangées dans les échantillons de selles positifs et négatifs pour les entérotoxines de *Clostridium perfringens* dans les concentrations indiquées : sulfate de baryum

(5 % p/p), lopéramide (antidiarrhéique, 5 % p/p), Pepto-bismol (antidiarrhéique, 5 % v/p), mucines (5 % p/p), cyclamate (édulcorant artificiel, 5 % v/p), sang humain (5 % v/p), acide stéarique et acide palmitique (mélange 1/1, 40% p/p), métronidazole (0,5) (antibiotique, 5 % v/p), diclofénac (0,00263 % v/p).

## Annexe

Symboles spécifiques au test :

Plate	Microplaque
Diluent   1	Tampon de dilution d'échantillon
Wash	Tampon de lavage
Control   +	Contrôle positif
Control   -	Contrôle négatif
Conjugate   1	Conjugué 1
Conjugate   2	Conjugué 2
Substrate	Substrat
Stop	Réactif d'arrêt

## Bibliographie

1. Collie, Renee E. McClane, Bruce A.: Evidence That the Enterotoxin Gene Can Be Episomal in *Clostridium perfringens* Isolates Associated with Non-Food-Borne Human Gastrointestinal Diseases. *J. Clin. Microbiol.* 36 No. 1, 30-36 (1998)
2. Collie, Renee E. et al. Phenotypic Characterization of Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* Isolates from Non-foodborne Human Gastrointestinal Diseases. *Anaerobe*, No. 4, 69-79 (1998)
3. Borriello, S.P. Newly described clostridial diseases of the gastrointestinal tract: *Clostridium perfringens* enterotoxin-associated diarrhea and neutropenic due to *Clostridium septicum*. In Borriello S.P. (eds.) *Clostridia in Gastrointestinal Disease*, pp 223-228, CRC Press, Inc., Boca Raton (1985)
4. Borriello, S.P. et al.: Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*: a possible cause of antibiotic-associated diarrhea. *Lancet* 1, 305-307 (1984)
5. Brett, M.M. et al. Detection of *Clostridium perfringens* and its enterotoxin in cases of sporadic diarrhea. *J. Clin. Pathol.* 45, 609-611 (1992)
6. Jackson, S. et al.: Diagnostic importance of *Clostridium perfringens* enterotoxin analysis in recurring enteritis among the elderly, chronic care psychiatric patients. *J. Clin. Microbiol* 23, 748-751 (1986)
7. Mpamugo, O. et al. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens*, as a cause of sporadic cases of diarrhoea. *J. Med. Microbiol.* 43, 442-445 (1995)
8. Borriello, S.P. Clostridial Disease of the Gut. *Clin. Infect. Dis.*, Suppl 2; 242-250 (1995)
9. Rood, Julian I. Virulence Genes of *Clostridium perfringens*. *Annu. Rev. Microbiol.* 52, 333-360 (1998)
10. Sakurai, Jun et al. Major Toxins of *Clostridium perfringens*. *J. Toxicol. – Toxin Reviews.* 16(4), 195-214 (1997)
11. Titball, Richard W. et al. The *Clostridium perfringens*  $\alpha$ -toxin. *Anaerobe* 5, 51-64 (1999)
12. Wnek, Andrew P. et al. Production and Characterization of Monoclonal Antibodies against *Clostridium perfringens* Type A Enterotoxin. *Infection and Immunity*. Vol. 50, No. 2., 442-448 (1985)
13. Hanna, Philip C. et al. Mapping of Functional Regions of *Clostridium perfringens* Type A Enterotoxin. *Infection and Immunity*. Vol. 60, No. 5, 2110-2114 (1992)
14. Brockmann, S. Gastroenteritis-Ausbruch verursacht durch *Clostridium perfringens*. *Epidemiologisches Bulletin* Nr. 18, 145-146 (2000)
15. Graf, P. Gastroenteritis-Ausbruch verursacht durch *Clostridium perfringens*; Robert Koch-Institut; *Epidemiologisches Bulletin* Nr. 41, 327-329 (2000)