

Clostridium K-SeT



www.corisbio.com

IFU-5820/FR/04

Fabricant:

Coris BioConcept
CREALYS Science Park
Rue Guillaume Fouquet, 11
5032 GEMBLOUX
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com
Produit en BELGIQUE

Test *in vitro* pour le diagnostic rapide de l'antigène du *Clostridium difficile* dans les matières fécales

USAGE IN VITRO

POUR USAGE PROFESSIONNEL UNIQUEMENT

Références: K-1520, 20 tests par kit, système de prélèvement compris
K-1220, 20 tests par kit, sans système de prélèvement

FR

I. INTRODUCTION

Clostridium difficile est une bactérie anaérobie agissant comme un pathogène opportuniste: elle croît dans l'intestin après un traitement par antibiotiques entraînant l'altération de la flore normale. Les souches toxigéniques de *Clostridium difficile* causent des infections allant de la diarrhée légère à la colite pseudo-membraneuse, potentiellement mortelle.

La maladie est causée par deux toxines produites par l'organisme: la toxine A (entérotoxine) et la toxine B (cytotoxine). Certaines souches produisent les deux toxines, d'autres uniquement la toxine B. Le rôle potentiel d'une troisième toxine dans la pathogénicité est encore débattu.

Le Glutamate Dehydrogenase (GDH) de *Clostridium difficile* s'est montré un bon indicateur de la prolifération de la bactérie car toutes les souches, toxigéniques ou non, la produisent en grande quantité.

Le test Clostridium K-SeT permet la détection spécifique de la GDH de *Clostridium difficile* dans les selles. Un échantillon donnant un résultat positif avec le test Clostridium K-SeT devrait être testé pour vérifier la toxigénicité de la bactérie.

II. PRINCIPE DU TEST

Le test est prêt à l'emploi et repose sur l'utilisation d'une technologie sur membrane avec des nanoparticules d'or colloïdal. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée avec un anticorps dirigé contre l'antigène *Clostridium difficile* (GDH). La spécificité est due à un anticorps spécifique à la GDH de l'organisme qui est conjugué à des particules d'or colloïdal. Ce conjugué est insolubilisé sur une membrane.

L'échantillon fécal doit être dilué dans le tampon de dilution fourni avec le test. Lorsque le tampon contenant la suspension de matière fécale entre en contact avec la bandelette, le conjugué solubilisé migre par diffusion passive avec l'échantillon et l'ensemble rencontre l'anticorps anti-*Clostridium difficile* adsorbé sur la nitrocellulose. Si l'échantillon contient des *C. difficile* GDH, le complexe conjugué-antigène reste fixé sur le réactif anti-*C. difficile* GDH et une ligne rouge apparaît. La solution continue à migrer et rencontre un second réactif qui fixe le conjugué de contrôle générant la ligne rouge de contrôle qui confirme le bon fonctionnement du test. Le résultat est visible dans les 15 minutes.

III. REACTIFS ET MATERIELS

1. Clostridium K-SeT (20)

20 pochettes scellées contenant une cassette et un dessicant. Chaque cassette contient une tigette sensibilisée.

2. Notice d'utilisation (1)

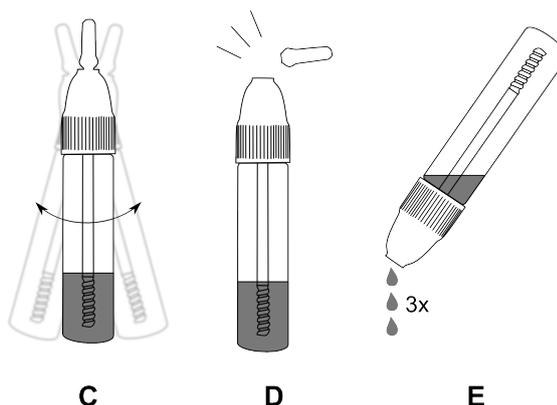
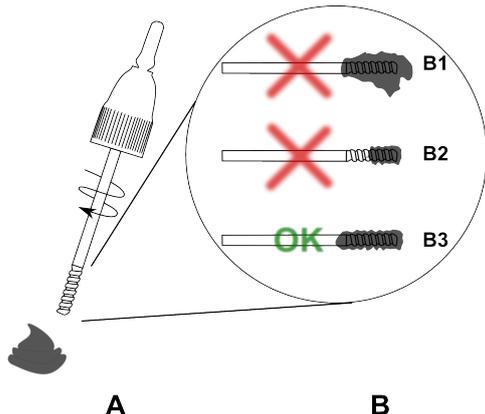
3. Tampon de dilution ST-A

Solution saline tamponnée à pH 7,5 contenant du TRIS, de l'EDTA, du NaNa3 (<0,1%), un détergent et des protéines de blocage.

- K-1220: 1 flacon (15 mL)
- K-1520: 20 systèmes de prélèvement d'échantillon (SPE) (1 mL) avec vis de prélèvement

Matériel disponible à la demande

- Contrôle négatif (Ref.: CTR-1000)



IV. PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Les composants de la trousse sont à utiliser en diagnostic *in vitro*, uniquement.
- Ouvrir la pochette avec précaution
- Eviter de toucher directement la nitrocellulose.
- Porter des gants pendant la manipulation des échantillons.
- Ne jamais mélanger les constituants de trouses différentes.
- Les sites d'adsorption des immunoréactifs sont signalés par les bandes vertes. La couleur verte disparaît pendant la réaction.
- La qualité des réactifs est garantie seulement jusqu'à leur date de péremption et s'ils ont été conservés dans les conditions indiquées dans cette notice.

V. ELIMINATION DES DECHETS

- Eliminer tous les consommables utilisés selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit assurer l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

VI. CONSERVATION

- Une trousse non ouverte doit être conservée entre 4 et 30°C et utilisée avant la date de péremption indiquée sur l'emballage. Une fois la pochette ouverte, démarrer le test immédiatement
- Les cassettes et le tampon ne doivent pas être congelés.

VII. PRELEVEMENTS

Les échantillons de selles doivent être testés le plus rapidement possible après avoir été recueillis. Si nécessaire, ils peuvent être conservés pendant une semaine entre 2 et 8 °C ou à -20°C pour des périodes plus longues.

S'assurer que les prélèvements n'ont pas été traités avec des échantillons contenant du formaldéhyde ou un dérivé de formaldéhyde.

VIII. PROCEDURE

Préparation du test:

Laisser les réactifs, dans leur emballage fermé, et les échantillons s'équilibrer à température ambiante (15-30°C) avant de débiter le test.

Ouvrir la pochette et ôter la cassette. Lorsque la pochette a été ouverte, utiliser la cassette le plus rapidement possible. Marquer les numéros des prélèvements sur la cassette (une cassette par échantillon).

Procédure de préparation des échantillons avec système de prélèvement (K-1520):

1. Ouvrir le SPE et utiliser la vis de prélèvement pour collecter l'échantillon (A). **Le rapport de dilution doit être de 4% p/v environ.** Veiller à ne pas prélever trop (B1) ou trop peu (B2) d'échantillons. Pour les échantillons liquides ou semi-liquides, prélever 80 µL d'échantillon à l'aide d'une pipette (non fournie) et déposer dans le SPE.
2. Insérer la vis dans le SPE et refermez le bouchon. Vortexer la préparation pour homogénéiser (C). La totalité de l'échantillon doit être mise en suspension.
3. Briser la pointe du bouchon (D) et déposer 3 gouttes de l'échantillon dans le puits de la cassette comme illustré ci-après (E).

Procédure de préparation des échantillons (K-1220):

1. Ajouter 14 gouttes de la solution du tampon de dilution dans un tube.
2. Plonger l'anse de prélèvement contenant l'échantillon fécal dans le tube. **Le rapport de dilution doit être environ de 4% P/V.** Pour les matières fécales liquides, utiliser 2 anses de 10 µL ; pour les matières fécales solides, ne prendre qu'une seule anse de 10 µL.
3. Jeter l'anse de prélèvement.
4. Vortexer la préparation pour homogénéiser. La totalité de l'échantillon doit être mise en suspension.
5. Déposer lentement 100 µL de l'échantillon préparé dans le puits de la cassette comme illustré ci-après.

Laisser réagir 15 minutes. Les résultats s'observent dans la fenêtre de lecture de la cassette. Un résultat positif peut être déclaré plus tôt dès l'instant où la ligne de contrôle et la ligne de test apparaissent.

Ne pas tenir compte de l'apparition de nouvelles lignes une fois le temps de réaction dépassé.

Les résultats doivent être lus sur une tigette encore humide.

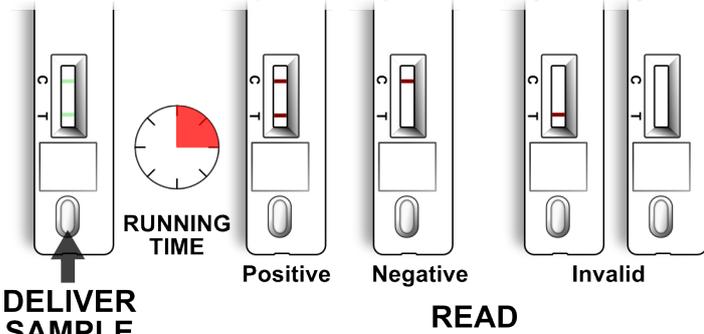
IX. INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats doivent être interprétés comme suit:

Test négatif : une bande pourpre apparaît dans la fenêtre de lecture au niveau de la ligne Contrôle (C). Aucune autre ligne n'est présente.

Test positif : la ligne pourpre de Contrôle (C) et la ligne pourpre de Test (T) sont toutes deux visibles. L'intensité des lignes tests peut varier en fonction de la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Un signal faible sur une ligne Test (T) doit être interprété comme un résultat positif.

Test invalide : aucune bande pourpre n'apparaît au niveau de la ligne Contrôle (C). L'absence de la ligne contrôle (C) rend le résultat ininterprétable. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec une nouvelle cassette.



Note : après séchage, une très légère ombre peut apparaître au niveau de la ligne test. Il ne faut pas en tenir compte dans l'interprétation des résultats.

X. CONTROLE DE QUALITE

Selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire, il est recommandé de contrôler régulièrement les performances du test. Déposer dans le puits de la cassette 100 µL de contrôle préparé conformément à la notice d'utilisation du CTR-1000.

XI. PERFORMANCES

A. Limite de détection

La limite de détectabilité a été évaluée en diluant une préparation de GDH purifiée. Les tests ont montré une limite de détection à une concentration de 1 ng/mL.

B. Sensibilité-Spécificité

1°) Une évaluation a été réalisée auprès d'un laboratoire national de référence (Belgique) sur 318 échantillons humains en comparaison avec une méthode conventionnelle de culture.

Coris BioConcept	Culture	Positifs	Négatifs	Total
Positifs		75	17	92
Négatifs		0	226	226
Total		75	243	318

95% Intervalle de confiance¹

Sensibilité:	100%	(93.9 à 100%)
Spécificité:	93%	(88.8 à 95.7%)
Valeur Prédictive Positive:	81.5%	(71.8 à 88.6%)
Valeur Prédictive Négative:	100%	(97.9 à 100%)
Concordance:	94.7% (301/318)	

2°) Une évaluation a été réalisée sur 100 échantillons de selles humaines. Les résultats obtenus ont été comparés avec un test ICT concurrent.

Coris BioConcept	ICT concurrent	Positifs	Négatifs	Total
Positifs		7	1	8
Négatifs		0	92	92
Total		7	93	100

95 % Intervalle de confiance¹

Sensibilité:	100 %	(56.1 à 100 %)
Spécificité:	98.9 %	(93.3 à 99.9 %)
Valeur Prédictive Positive:	87.5 %	(46.7 à 99.3 %)
Valeur Prédictive Négative:	100 %	(95 à 100 %)
Concordance:	99 % (99/100)	

C. Précision

Des essais de répétabilité intra-lot ont été menés en répétant 15 fois des mesures sur des échantillons positifs et des tampons. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas.

Des essais de répétabilité inter-lots ont été menés sur 3 lots de production différents et dans les mêmes conditions d'échantillons que ci-dessus. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas.

D. Interférences

Les pathogènes suivants ont été utilisés pour rechercher les réactions croisées possibles: *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Enterobacter cloacae*,

Enterococcus faecalis, *Escherichia coli*, *Escherichia hermannii*, *Haemophilus influenzae*, *Helicobacter pylori*, *Klebsiella pneumoniae*, *Legionella bozemanii* (sg1), *Legionella longbeachae*, *Legionella pneumophila* (sg1), *Moraxella catarrhalis*, *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria meningitidis* (sg B & C), *Neisseria sicca*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus* (Gr B, C, F, G), *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Ureaplasma urealyticum*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica* (type1, 3, 9). Aucune réaction croisée n'a été observée.

XII. LIMITES DE LA TROUSSE

Il s'agit d'un test qualitatif qui ne permet pas de quantifier la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Le contexte clinique et tous les autres résultats (anamnèse) doivent être pris en considération pour établir le diagnostic.

Un test positif ne permet pas d'éliminer la possibilité de présence d'autres agents pathogènes.

XIII. PROBLEMES TECHNIQUES / RECLAMATIONS

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celles indiquées dans cette notice,

1. Notez le N° de lot du kit concerné
2. Si possible, conservez l'échantillon ayant posé problème au congélateur, le temps de la gestion du problème
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

XIV. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A. Ramadass Balamurugan, V. Balaji and Balakrishnan S. Ramakrishna: *Estimation of faecal carriage of Clostridium difficile in patients with ulcerative colitis using real time polymerase chain reaction*, Indian Journal of Medical Research, p.472-477, May 2008
- B. E. J. Kuijper, B. Coignard and P. Tüll: *Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe*, Review Clinical Microbiology and Infections, 12 suppl 6, p. 2-18, Oct. 2006
- C. Leyerly D.M., H.C. Krivan and D.T.Wilkins: *Clostridium difficile: its disease and toxins*. Clinical Microbiology Reviews, p. 1-18, Jan. 1988
- D. Ramsey L. et al: *Fulminant Clostridium difficile: an underappreciated and increasing cause of death and complications*, Annals of Surgery 235 (3) p. 363-372: Mar. 2002
- E. Wren MW., Kinson R., Sivapalan M., Shemko M., Shetty NR.: *Detection of Clostridium difficile infection: a suggested laboratory diagnostic algorithm*, British Journal of Biomedical Sciences, 66(4) p. 175-179, 2009.
- F. Willis DH. And JA Kraft: *Confirmation that the latex-reactive protein of Clostridium difficile is a Glutamate Dehydrogenase*. Journal of clinical microbiology, 30, p. 1363-1364, May 1992
- G. Leyerly M. et al: *characterisation of a toxinA-negative, toxinB-positive strain of clostridium difficile*, Infection and immunity, p. 4633-4639 Nov. 1992
- H. Shetty N., Wren MW., Coen PG.: *The role of glutamate dehydrogenase for the detection of Clostridium difficile in faecal samples: a meta-analysis*, Journal of Hospital Infections, 77(1), p. 1-6, Jan. 2001.

Dernière révision: 20 FEVRIER 2023

REF	Numéro du catalogue		Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limites de température
Σ	Contenu suffisant pour <n> tests	LOT	Code du lot
	Lire la notice d'utilisation		Ne pas réutiliser
	Conserver au sec		Date de péremption
DIL AS	Diluant du test	CONT NaN ₃	Contient de l'azoture de sodium
UDI	Identifiant unique des dispositifs		

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).