

CerTest Rapid Test

CerTest
BIOTEC

CerTest

***Clostridium difficile* Toxin A+B**

ONE STEP *Clostridium difficile* antigen Toxin A
and Toxin B COMBO CARD TEST

CE IVD

The test should be used by professional trained in IVD devices.
Le test doit être utilisé par des professionnels formés aux dispositifs
de DIV.

These instructions for use apply to the following references:

CD882001V; CD882001VC; CD882001VCC

Ces instructions d'utilisation s'appliquent aux références suivantes :

CD882001V; CD882001VC; CD882001VCC

Initial part of the Instructions for use is common for all the references/

La partie initiale de la notice d'utilisation est commune à toutes les références

Specific parts for each of the references are described in the corresponding annexes (see tables below)/

Les parties spécifiques à chacune des références sont décrites dans les annexes correspondantes (voir tableaux ci-dessous).

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B (SEE ANNEX 1) /

KIT DE 20 CASSETTES DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B (VOIR L'ANNEXE 1)

PRODUCT / PRODUIT	REFERENCE / RÉFÉRENCES
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials)	CD882001V

Table A 1. Reference for kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B/ Référence pour kit de 20 cassettes de CerTest Clostridium difficile Toxin A+B.

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B WITH POSITIVE CONTROL (SEE ANNEX 2) /

KIT DE 20 CASSETTES DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B AVEC DES CONTRÔLES POSITIFS (VOIR L'ANNEXE 2)

PRODUCT / PRODUIT	REFERENCE / RÉFÉRENCES
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials + PC)	CD882001VC

Table A 2. Reference for kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B with positive control / Référence pour kit de 20 cassettes de CerTest Clostridium difficile Toxin A+B avec contrôle positif.

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B WITH POSITIVE AND NEGATIVE CONTROL (SEE ANNEX 3) /

KIT DE 20 CASSETTES DE CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B AVEC DES CONTRÔLES POSITIFS ET NÉGATIFS (VOIR L'ANNEXE 3)

PRODUCT / PRODUIT	REFERENCE / RÉFÉRENCES
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials + PC + NC)	CD882001VCC

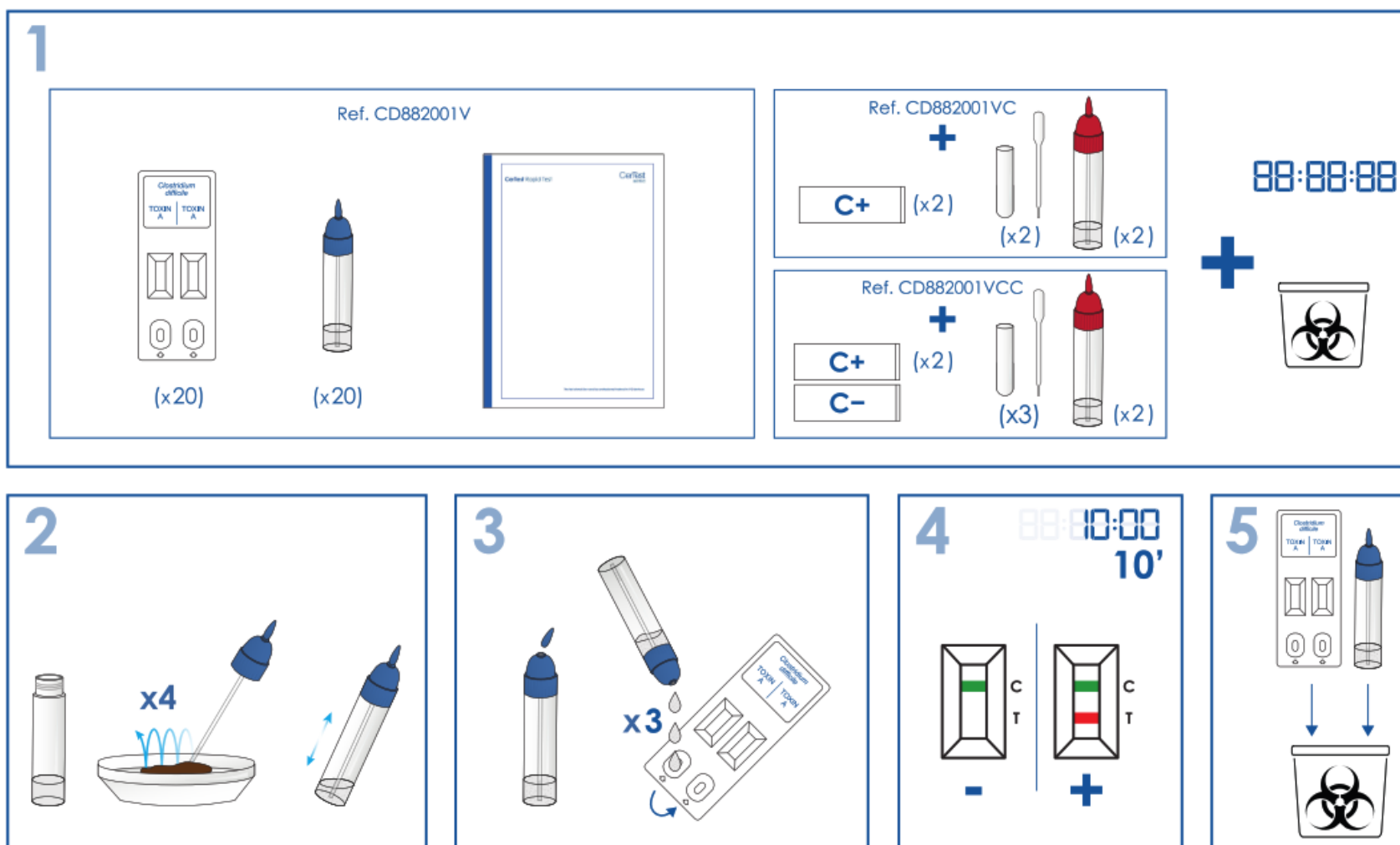
Table A 3. Reference for Kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B with positive and negative control / Référence pour kit de 20 cassettes de CerTest Clostridium difficile Toxin A+B avec contrôle positif et négatif.

1. Quick Guide/ Guide Rapide

Quick Guide

CerTest Clostridium difficile Toxin A+B

CerTest
BIOTEC



Content/ Contenu

ENGLISH/ FRANÇAIS

1. Quick Guide/ Guide Rapide	3
------------------------------------	---

ENGLISH

2. Intended use	8
3. Summary and Explanation	8
4. Test principle	9
5. Storage and Stability	10
6. Precautions for users	10
7. Specimen collection and preparation.....	11
8. Limitations of the test.....	12
9. Expected values.....	12
10. Performance characteristics	13
A. Analytical sensitivity (detection limit)	13
B. Clinical sensitivity and specificity	13
C. Hook Effect	15
D. Cross Reactivity	15
E. Interferences.....	16
F. Repeatability and Reproducibility.....	18
ANNEX 1	19
I. Materials.....	19
II. Test procedures (samples)	19
III. Interpretation of results	20
IV. Quality control.....	22
ANNEX 2.....	23
I. Materials.....	23
II. Test procedures (samples)	24
III. Interpretation of results	25
IV. Quality control.....	26
A. External positive controls.....	26
1. CerTest C. difficile Toxin A Positive Control.....	26
1.1. Positive control procedure	27

2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control	28
2.1. Positive control procedure	28
A.1 Interpretation positive control procedure	29
ANNEX 3.....	30
I. Materials.....	30
II. Test procedures (samples)	31
III. Interpretation of results	32
IV. Quality control.....	33
A. External positive controls.....	33
1. CerTest C. difficile Toxin A Positive Control.....	33
1.1. Positive control procedure	34
2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control	35
2.1. Positive control procedure	35
A.1 Interpretation positive control procedure	36
B. External negative control. CerTest Negative Control	37
B.1 Negative control procedure.....	37
B.1.1 Interpretation negative control procedure	39
 FRANÇAIS	
2. Domaine d'utilisation	40
3. Résumé et explication.....	40
4. Principe du test.....	41
5. Conservation et Stabilité.....	42
6. Précautions pour les utilisateurs.....	42
7. Prélèvement et préparation des échantillons.....	43
8. Restrictions du test.....	44
9. Valeurs attendues	45
10. Données de performance	45
A. Sensibilité analytique (limite de détection)	45
B. Sensibilité et spécificité clinique	45
C. Effet Hook.....	47
D. Réactions croisées	47
E. Interférences.....	48
F. Répétabilité et reproductibilité.....	51

ANNEXE 1	52
I. Matériel	52
II. Mode opératoire (échantillons)	52
III. Interprétation des résultats	53
IV. Contrôle de qualité	55
ANNEXE 2	56
I. Matériel	56
II. Mode opératoire (échantillons)	56
III. Interprétation des résultats	57
IV. Contrôle de qualité	59
A. Contrôles positifs externes	59
Il est recommandé d'utiliser le même test pour les deux contrôles externes positifs.	59
1. CerTest C.difficile Toxin A Positive Control	59
1.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif	59
2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control	60
2.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif	60
A.1 Interprétation de la procédure contrôle positif	61
ANNEXE 3	63
I. Matériel	63
II. Mode opératoire (échantillons)	63
III. Interprétation des résultats	64
IV. Contrôle de qualité	66
A. Contrôles positifs externes	66
1. CerTest C.difficile Toxin A Positive Control	66
1.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif	66
2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control	67
2.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif	67
A.1 Interprétation de la procédure contrôle positif	68
B. Contrôle négatif externe. CerTest Negative Control	70
B.1 Procédure d'utilisation du Contrôle négatif	70
B.1.1 Interprétation de la procédure de contrôle négatif	71
ENGLISH/ FRANÇAIS	
11. Reference/Bibliographie	72

12.	Symbols for IVD components and reagents/ Symboles pour réactifs et produits de diagnostic <i>in vitro</i>	72
-----	---	----

ENGLISH

2. Intended use

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B one step combo card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of Toxin A and Toxin B of *Clostridium difficile* in stool samples.

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B combo card test offers a simple and highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Clostridium difficile* infection.

3. Summary and Explanation

Clostridium difficile (*C. difficile*), a Gram-positive spore bearing anaerobic bacterium is the major aetiological agent of diarrhoea and colitis associated with antibiotics (1).

C. difficile is the most common cause of health care-associated diarrhoea in developed countries and is a major source of nosocomial morbidity and mortality worldwide. Although traditionally considered an infection affecting patients in health care facilities, in the last 10-20 years *C. difficile* infection is increasingly identified in the community among people with no recent hospitalizations and without prior antibiotic exposure (2–4).

Disease due to *C. difficile* develops when the bacteria is allowed to proliferate in the colon, most commonly after antibiotic use has resulted in sufficient disturbance of the intestinal microflora. Overall, the use of antibiotics is associated with a three-fold increased risk of community-associated *C. difficile* infection (CA-CDI). However, the risk of CA-CDI is largely dependent on the class of antibiotic use (1,3).

C. difficile can release two high-molecular-weight toxins, Toxin A and Toxin B, which are responsible for the clinical manifestations, which range from mild, self-limited watery diarrhoea to fulminant pseudomembranous colitis, toxic megacolon, and death. *Clostridium difficile* Glutamate Dehydrogenase (GDH) is an enzyme produced in large quantities by all toxigenic and non-toxigenic strains, making it an excellent marker for the microorganism (2,5).

The use of a direct faecal GDH screen, together with a faecal Toxin AB test, could improve the diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Patients with a positive faecal GDH but negative toxin can be monitored closely while awaiting the result of a toxigenic culture (TC), that is used as the gold standard technique to determine *Clostridium difficile* infection (5).

Preventing *C. difficile* infection offers a potentially significant improvement in patient's outcomes, as well as a reduction in hospital costs and resource expenditures. Careful use of antibiotics remains a prominent public health strategy to reduce *C. difficile* infection cases (1,3).

4. Test principle

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the qualitative detection of Toxin A and Toxin B of *Clostridium difficile* in human stool samples from patients suspected of *Clostridium difficile* Toxin A and Toxin B infection.

Strip A consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against Toxin A and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-Toxin A) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip B consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against Toxin B and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-Toxin B) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

If the sample is Toxin A positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugates complex (anti-Toxin A monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip A and if the sample is Toxin B positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugated complex (anti-Toxin B monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in strip B, which were previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-Toxin A antibodies present on the membrane of strip A (test line) and the anti-Toxin B antibodies present on the membrane of strip B (test line) capture the coloured conjugate and the red lines will be visible in both strips. These bands are used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no Toxin A and Toxin B presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with any red-coloured conjugate complex. The anti-Toxin A and the anti-Toxin B antibodies present on the membranes (test lines) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red lines will not appear.

Whether the sample is positive or not, in both strips, the mixture continues to move across the membranes to the immobilized specific antibodies placed in the control lines. The anti-specific protein antibodies present on both membranes will capture control green-conjugate complex and both control lines will always appear. The presence of these green lines serve as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.

5. Storage and Stability

The kits should be stored at 2-30°C, in these conditions can be used until the expiration date which is stated on the kit label. All the kit components are for only one use and should remain in its primary packaging until use. Do not freeze.

6. Precautions for users

- **For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- Read the instructions for use carefully before use the kit.
- Do not use after expiration date.
- Do not use the kit if the label that seals the outer box is broken.
- Do not use product if the protective external box or the protective aluminium pouches are opened or damaged upon arrival.
- Do not use the test (and positive/negative controls if the final reference contains them) if desiccant material is not present or broken inside the aluminium pouch.
- Components provided in the kit are approved for use in the **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B**. Do not mix or use with components from other product kit or lots. Do not use with other commercial kit components (from another supplier).
- All the components of the kits are for single use. Do not reuse.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves or other personal protective equipment such as goggles and mask that will be considered necessary. Do not eat, drink or smoke in the working area.
- All the specimens should be considered potentially hazardous, as well as all the materials that have been exposed to the samples and they must be handled according to the local or national safety regulations. Must be handled in the same manner as an infectious agent. Use proper infection control practices. These practices should include, but are not limited to, personal protective equipment (PPE), such as laboratory coat, surgical or appropriate mask, or face shield, disposable gloves, and eye protection. Take necessary precautions during the collection, transport, storage, handling, and disposal of the samples. Each sample must be correctly and unequivocally identified in order to guarantee the correct traceability of the samples.
- A new test must be used for each sample to avoid contaminations errors.
- Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- Reagents contain preservatives (<0.1% sodium azide). Avoid any contact with skin or mucous membrane. In accordance with Regulation (EC) No 1907/2006 (REACH), **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** do not contain substances and/or mixtures which meet the hazard classification criteria available in Regulation (EC) No 1272/2008 (CLP) or which are in concentrations higher than the value established in the mentioned regulation for their declaration. Material Safety Data Sheet are not included with this device, nevertheless it could be consulted upon requested to CerTest Biotec.

- The certificate of analysis is not included with the device, however, it could be requested to CerTest Biotec in case of need.
- The presence of yellow lines in the results window (control line zone and test line zone), before using the test, is completely normal and does not imply failure of the test functionality.
- Visual interpretation of the results by coloured lines, interpretation of the results must be done by professional user without problems in colour interpretation.
- The tests (vials, devices, positive/negative control if any) should be discarded in a proper biohazard container after testing. These containers should be discarded in accordance with local or national laws or regulations.

7. Specimen collection and preparation

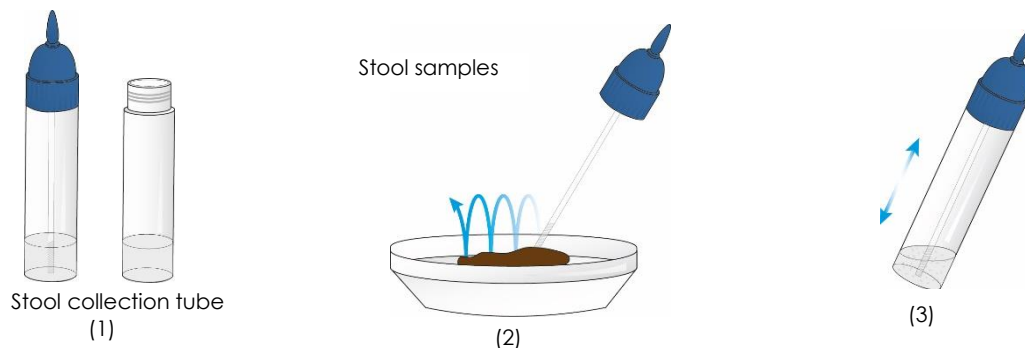
Samples should be collected in a clean container and processed as soon as possible after collection. Follow proper infection control practices.

Samples can be preserved at room temperature if they are going to be analysed into the same day after taking them. The recommendation is processed the sample immediately after collection.

If this is not possible, stool samples could be stored in the refrigerator (2-8°C) for a maximum of 24 hours. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen (-20°C). In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Ensure only the amount needed is thawed because of freezing and defrosting cycles are not recommended. Homogenise stool samples as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the **stool collection tube** (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2), to collect faecal sample (approx. 50 mg) and add it to the **stool collection tube**. For liquid samples, add approx. 125 µL in the **stool collection tube** using a micropipette.
2. Close the **stool collection tube**. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



Continue immediately with the test procedure. See Annexes. Each sample vial (containing the sample) and cassette with which will be tested that sample should be perfectly recognizable including patient's identification.

8. Limitations of the test

- 1) The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
- 2) An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
- 3) The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
- 4) **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
- 5) Positive results determine the presence of Toxin A and Toxin B of *Clostridium difficile* in faecal samples. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques (toxigenic culture) to determine the strain. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
- 6) A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the stool sample is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation persist, a *Clostridium difficile* determination should be carried out, on a sample from an enrichment culture.
- 7) Bloody stool samples can contain components that may cause non-specific reactions in the test. Every bloody stool samples whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.
- 8) Mucous stool samples may cause non-specific reactions in the test. Every mucous stool sample whose result is positive should be followed up with other techniques of diagnosis to confirm the result.

9. Expected values

Clostridium difficile is associated with 95-100% cases of pseudomembranous colitis, 60-75% cases of antibiotic-associated colitis and 35% of cases of antibiotic-associated diarrhoea cases. In addition, nearly 223.900 people in the United States required hospital care for *C. difficile* and at least 12.800 people died in 2017. Although U.S. outpatient antibiotic prescription rate decreased from 2011 to 2016, at least 30% of outpatient antibiotic prescription are estimated to be unnecessary, which highlights the need to improve outpatient prescribing (4–6).

While the development of new treatments is one of these key actions, such investments must be coupled with dedicated efforts toward preventing infections in the first place, slowing the development of resistance through better antibiotic use, and stopping the spread of resistance (6).

10. Performance characteristics

A. Analytical sensitivity (detection limit)

Detection limit value (LoD) of **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** is 2 ng/mL of *Clostridium difficile* Toxin A and 3.12 ng/mL of *Clostridium difficile* Toxin B.

There is not any external standard approved as a general and reference standard. The internal standard used for validation of this CerTest product are purified *Clostridium difficile* Toxin A and Toxin B.

B. Clinical sensitivity and specificity

An external retrospective evaluation (Hospital Clinico Lozano Blesa, Zaragoza) with frozen stool samples was performed using **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** versus another immunochromatographic (IC) test. Discordant results between the IC tests were analyzed by qPCR. This is the evaluation criteria. The results were as follows:

For Strip A: Clostridium difficile Toxin A

		Evaluation criteria (Toxin A)		
IC test: CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin A)		+	-	Total
	+	51	0	51
	-	1	198	199
	Total	52	198	250

Table 1 CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin A) performance versus evaluation criteria.

CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin A) vs Evaluation criteria		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity	98.1%	89.7-100.0%
Specificity	100.0%	98.2-100.0%
PPV	100.0%	93.0-100.0%
NPV	99.5%	97.2-100.0%

Table 2 CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin A) clinical results.

For Strip B: Clostridium difficile Toxin B

		Evaluation criteria (Toxin B)		
IC test: CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin B)		+	-	Total
	+	40	0	40
	-	4	206	210
	Total	44	206	250

Table 3 CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (Toxin B) performance versus evaluation criteria.

CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B (Toxin B) vs Evaluation criteria		
	Mean Value	95% confidence interval
Sensitivity	90.9%	78.3-97.5%
Specificity	100.0%	98.2-100.0%
PPV	100.0%	91.2-100.0%
NPV	98.1%	95.2-99.5%

Table 4 CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxin B) clinical results.

The most recent external retrospective evaluation performed to the test (with frozen stool samples) showed the following results:

- **Toxin A:** Sensitivity 98.1%, (95% confidence interval: 89.7-100.0%) and specificity 100.0% (95% confidence interval: 98.2-100.0%).
- **Toxin B:** Sensitivity 90.9%, (95% confidence interval: 78.3-97.5%) and specificity 100.0% (95% confidence interval: 98.2-100.0%).

The results showed a high sensitivity and specificity to detect Toxin A and/or Toxin B of *Clostridium difficile* using **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B**.

For Strip A: *Clostridium difficile* Toxin A

Ref.	Location	Sample type	Reference	Target
1	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-June 2017	Human stool samples	Code (17.1.1)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A
2	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-May 2021	Human stool samples	Code (17.1.2)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A

Table 5 Resume of Clinical evaluations. Location, sample type, target.

Ref.	TP	FP	FN	TN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	PPV (%) CI (%)	NPV (%) CI (%)
1	28	0	1	97	126	96.9 (92.2-99.9)	100.0 (96.2-100.0)	100.0 (87.7-100.0)	99.0 (94.4-100.0)
2	51	0	1	198	250	98.1 (89.7-100.0)	100.0 (98.2-100.0)	100.0 (93.0-100.0)	99.5 (97.2-100.0)
Total	79	0	2	295	376	97.5 (91.4-99.7)	100.0 (98.8-100.0)	100.0 (95.4-100.0)	99.3 (97.6-99.9)

Table 6 Clinical evaluations and global results. True positive (TP), false positive (FP), false negative (FN), true negative values (TN), and total samples (N). Sensitivity (Sens), specificity (Spec), Predictive Positive Values (PPV), Predictive Negative Values (NPV), 95% interval of confidence (CI) for CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxin A).

For Strip B: *Clostridium difficile* Toxin B

Ref.	Location	Sample type	Reference	Target
1	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-June 2017	Human stool samples	Code (17.1.1.)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin B
2	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-May 2021	Human stool samples	Code (17.1.2)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin B

Table 7 Resume of Clinical evaluations. Location, sample type, target.

Ref.	TP	FP	FN	TN	N	Sens. (%) CI (95%)	Spec. (%) CI (%)	PPV (%) CI (%)	NPV (%) CI (%)
1	36	1	0	89	126	100.0 (90.3-100.0)	98.9 (94.0-100.0)	97.3 (85.8-99.9)	100.0 (95.9-100.0)
2	40	0	4	206	250	90.9 (78.3-97.5)	100.0 (98.2-100.0)	100.0 (91.2-100.0)	98.1 (95.2-99.5)
Total	76	1	4	295	376	95.0 (87.7-98.6)	99.7 (98.1-100.0)	98.7 (93.0-100.0)	98.7 (96.6-99.6)

Table 8 Clinical evaluations and global results. True positive (TP), false positive (FP), false negative (FN), true negative values (TN), and total samples (N). Sensitivity (Sens), specificity (Spec), Predictive Positive Values (PPV), Predictive Negative Values (NPV), 95% interval of confidence (CI) for CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxin B).**C. Hook Effect**

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B does not show inhibitory hook effect at concentration higher than $10^2 \times \text{LoD}$ for *C. difficile* Toxin A and higher than $10^4 \times \text{LoD}$ for *C. difficile* Toxin B.

D. Cross Reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B**, no cross reactivity against organism, pathogens, substances that could cause infections:

For Strip A: *Clostridium difficile* Toxin A

Cross reactivity									
Virus	Adenovirus	-	Coronavirus	-	Influenza B	-	Norovirus GII	-	Rotavirus
	Astrovirus	-	Influenza A	-	Norovirus GI	-	Respiratory Syncytial Virus	-	
Bacteria	<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Escherichia coli</i> O:157	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Shigella boydii</i>	-	<i>Streptococcus pneumococcal</i>
	<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Escherichia coli</i> O:026	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-	<i>Shigella dysenteriae</i>	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Clostridium difficile</i> antigen GDH	-	<i>Escherichia coli</i> O:111	-	<i>Salmonella paratyphi</i>	-	<i>Shigella flexneri</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
	<i>Clostridium difficile</i> Toxin B	-	<i>Helicobacter pylori</i>	-	<i>Salmonella typhi</i>	-	<i>Shigella sonnei</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9
	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	
Parasites	<i>Cryptosporidium Parvum</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Entamoeba dispar</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	
Others	Pig haemoglobin	-	Bovine haemoglobin	-					

Table 9 Cross reactivity results (Toxin A).

For Strip B: *Clostridium difficile* Toxin B

Cross reactivity									
Virus	Adenovirus	-	Coronavirus	-	Influenza B	-	Norovirus GII	-	Rotavirus
	Astrovirus	-	Influenza A	-	Norovirus GI	-	Respiratory Syncytial Virus	-	
Bacteria	<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Escherichia coli</i> O:157	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Shigella boydii</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
	<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Escherichia coli</i> O:026	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-	<i>Shigella dysenteriae</i>	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>
	<i>Clostridium difficile</i> antigen GDH	-	<i>Escherichia coli</i> O:111	-	<i>Salmonella paratyphi</i>	-	<i>Shigella flexneri</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3
	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A	-	<i>Helicobacter pylori</i>	-	<i>Salmonella typhi</i>	-	<i>Shigella sonnei</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9
	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Legionella pneumophila</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-	
Parasites	<i>Cryptosporidium Parvum</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Entamoeba dispar</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	
Others	Pig haemoglobin	-	Bovine haemoglobin	-					

Table 10 Cross reactivity results (Toxin B).

E. Interferences

An evaluation was performed to determine the possible interferences of **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B**; no interferences against the substances tested were detected:

For Strip A: *Clostridium difficile* Toxin A

	Potencial interfering substance	Concentration	Results	Potencial interfering substance	Concentration	Results
Exogenous	Metronidazole	3.0 mg/mL	No interference	Loperamide hydrochloride (Fortasec)	0.15 mg/mL	No interference
	Ampicillin	3.0 mg/mL	No interference	Heparin (Hibor)	350.0 IU/mL	No interference
	Oseltamivir	0.3 mg/mL	No interference	Almagato (Almax)	3.0 mg/mL	No interference
	Amantadine	0.3 mg/mL	No interference	Fosfamicin (Monurol)	3.0 · 10 ⁻³ mg/mL	No interference
	Ribavirin	3.0 mg/mL	No interference	Acetylcysteine (Fluimucil)	3.0 mg/mL	No interference
	Codeine (Toseina)	0.2 mg/mL	No interference	Dexketoprofen trometamol (Enantyum)	0.3 mg/mL	No interference
	Benzocaine (Angileptol)	0.3 mg/mL	No interference	Levofloxacin	3.0 mg/mL	No interference
	Cloperastine (Flutox)	0.3 mg/mL	No interference	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	No interference
	Carbocisteine (Iniston mucolítico)	3.0 mg/mL	No interference	Rifampicin (Rifaldin)	0.3 mg/mL	No interference
	Loratadine	0.3 mg/mL	No interference	Phenoxymethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	No interference
	Dexchloropheniramine (Polaramine)	0.3 mg/mL	No interference	Ambroxol hydrochloride (Mucosan)	0.3 mg/mL	No interference
	Ebastine (Ebastel)	3.0 mg/mL	No interference	Macrogol 3350 (Movicol)	3.0 mg/mL	No interference
	Acetyl Salicylic (Adiro)	0.3 mg/mL	No interference	Lysine Carbocysteinate (Pectox)	3.0 · 10 ⁻² mg/mL	No interference
	Ibuprofen (Espidifen)	3.0 mg/mL	No interference	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	No interference

	Potencial interfering substance	Concentration	Results	Potencial interfering substance	Concentration	Results
	Paracetamol (<i>Dolocatil</i>)	5.0 mg/mL	No interference	Lorazepam	3.0·10 ⁻³ mg/mL	No interference
	Metamizole (<i>Nolotil</i>)	5.0 mg/mL	No interference	Amoxicillin	3.0 mg/mL	No interference
	Prednisone	0.3 mg/mL	No interference	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	No interference
	Omeprazole	2.0·10 ⁻³ mg/mL	No interference	Biotine	0.10 mg/mL	No interference
	Naso GEL	0.9 mg/mL	No interference	Sore Throat Phenol spray	0.5 mg/mL	No interference
	CVS Nasal Spray (<i>Cromolyn</i>)	4.0 mg/mL	No interference	Tobramycin	0.3 mg/mL	No interference
	Afrin (<i>Oxymetazoline</i>)	5.0·10 ⁻² mg/mL	No interference	Mupirocin	2.5·10 ⁻² mg/mL	No interference
	CVS Nasal Drops (<i>Phenylephrine</i>)	10.0 mg/mL	No interference	Fluticasone Propionate	5.0·10 ⁻² mg/mL	No interference
	ZICAM	1.0 mg/mL	No interference	Homeopathic	DIL 1/10	No interference
	Phenylpropanolamine	0.3 mg/mL	No interference			
Endogenous	Human haemoglobin	5.0 µg/mL	No interference	Human lactoferrin	5.0 µg/mL	No interference
	Human transferrin	0.5 µg/mL	No interference	Mucine	0.5 %	No interference
	Human calprotectin	5.0 µg/mL	No interference	Human blood	5.0 %	No interference

Table 11 *Clostridium difficile* toxin A interferences results.**For Strip B: *Clostridium difficile* Toxin B**

	Potencial interfering substance	Concentration	Results	Potencial interfering substance	Concentration	Results
Exogenous	Metronidazole	3.0 mg/mL	No interference	Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>)	0.15 mg/mL	No interference
	Ampicillin	3.0 mg/mL	No interference	Heparin (<i>Hibor</i>)	350.0 IU/mL	No interference
	Oseltamivir	0.3 mg/mL	No interference	Almagato (<i>Almax</i>)	3.0 mg/mL	No interference
	Amantadine	0.3 mg/mL	No interference	Fosfamicin (<i>Monurol</i>)	3.0·10 ⁻³ mg/mL	No interference
	Ribavirin	3.0 mg/mL	No interference	Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>)	3.0 mg/mL	No interference
	Codeine (<i>Toseina</i>)	0.2 mg/mL	No interference	Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>)	0.3 mg/mL	No interference
	Benzocaine (<i>Angileptol</i>)	0.3 mg/mL	No interference	Levofloxacin	3.0 mg/mL	No interference
	Cloperastine (<i>Flutox</i>)	0.3 mg/mL	No interference	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	No interference
	Carbocisteine (<i>Iniston mucolítico</i>)	3.0 mg/mL	No interference	Rifampicin (<i>Rifaldin</i>)	0.3 mg/mL	No interference
	Loratadine	0.3 mg/mL	No interference	Phenoxyethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	No interference
	Dexchlorpheniramine (<i>Polaramine</i>)	0.3 mg/mL	No interference	Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>)	0.3 mg/mL	No interference
	Ebastine (<i>Ebastel</i>)	3.0 mg/mL	No interference	Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>)	3.0 mg/mL	No interference
	Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>)	0.3 mg/mL	No interference	Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>)	3.0·10 ⁻² mg/mL	No interference
	Ibuprofen (<i>Espidifen</i>)	3.0 mg/mL	No interference	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	No interference
	Paracetamol (<i>Dolocatil</i>)	5.0 mg/mL	No interference	Lorazepam	3.0·10 ⁻³ mg/mL	No interference
	Metamizole (<i>Nolotil</i>)	5.0 mg/mL	No interference	Amoxicillin	3.0 mg/mL	No interference
	Prednisone	0.3 mg/mL	No interference	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	No interference

	Potencial interfering substance	Concentration	Results	Potencial interfering substance	Concentration	Results
	Omeprazole	2.0·10 ⁻³ mg/mL	No interference	Biotine	0.10 mg/mL	No interference
	Naso GEL	0.9 mg/mL	No interference	Sore Throat Phenol spray	0.5 mg/mL	No interference
	CVS Nasal Spray (Cromolyn)	4.0 mg/mL	No interference	Tobramycin	0.3 mg/mL	No interference
	Afrin (Oxymetazoline)	5.0·10 ⁻² mg/mL	No interference	Mupirocin	2.5·10 ⁻² mg/mL	No interference
	CVS Nasal Drops (Phenylephrine)	10.0 mg/mL	No interference	Fluticasone Propionate	5.0·10 ⁻² mg/mL	No interference
	ZICAM	1.0 mg/mL	No interference	Homeopathic	DIL 1/10	No interference
	Phenylpropanolamine	0.3 mg/mL	No interference			
Endogenous	Human haemoglobin	5.0 µg/mL	No interference	Human lactoferrin	5.0 µg/mL	No interference
	Human transferrin	0.5 µg/mL	No interference	Mucine	0.5 %	No interference
	Human calprotectin	5.0 µg/mL	No interference	Human blood	5.0 %	No interference

Table 12 *Clostridium difficile* toxin B interferences results.

F. Repeatability and Reproducibility

Following the study of repeatability and reproducibility of **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B**, performed using different internal samples, negative and positive, no significative differences have been observed within the evaluations.

ANNEX 1

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B. Catalogue**reference: CD882001V**

Annex for the following reference:

PRODUCT	REFERENCE
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials)	CD882001V

Table A 1. Reference for kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B.

I. Materials

MATERIALS PROVIDED	MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED
- 20x CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (combo card test format) - 20x Stool collection tubes with diluent - 1x IFU Instructions for use (including Quick guide use).	- Disposable gloves (other personal protective equipment that will be considered necessary) - Timer - Specimen collection container

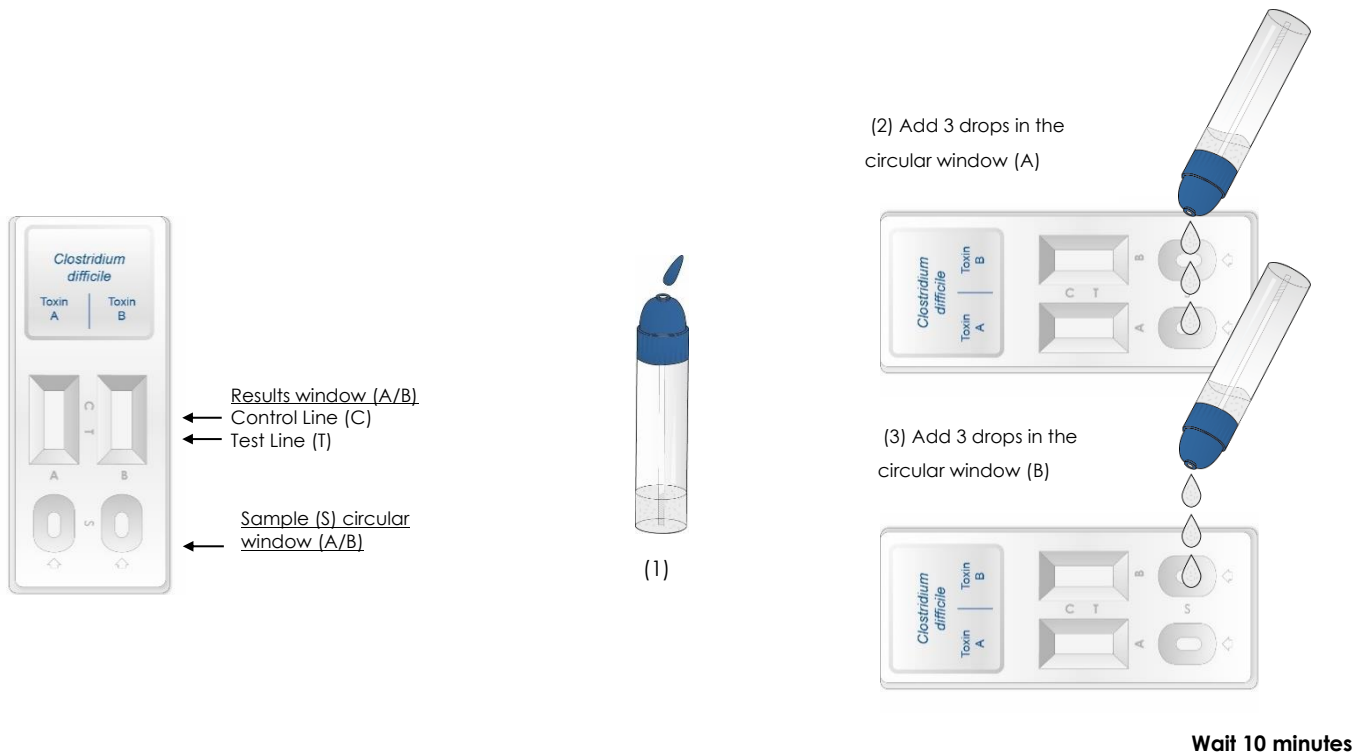
Table A 1.1 Materials necessities for test performance.

II. Test procedures (samples)

Follow proper infection control practices. Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the **stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
2. Remove **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) from its sealed bag just before using it.
3. Take the **stool collection tube**, cut the end of the cap (1) and dispense 3 drops in the circular window marked with the letter A (2), 3 drops, using the same tube, in the circular window marked with letter B (3). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



III. Interpretation of results

(please, refer to the illustration below)

	Toxin A	Toxin B		Interpretation of the results
1.	NEGATIVE	NEGATIVE		There is no Toxin A and Toxin B presence in the sample. No infection caused by <i>Clostridium difficile</i> . A negative result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN		
2.	POSITIVE	POSITIVE		There are Toxin A and Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i> . The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN-RED	GREEN-RED		
3.	POSITIVE	NEGATIVE		There is Toxin A presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i> . The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result.
	GREEN-RED	GREEN		

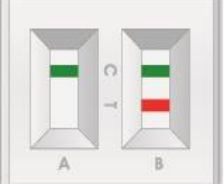
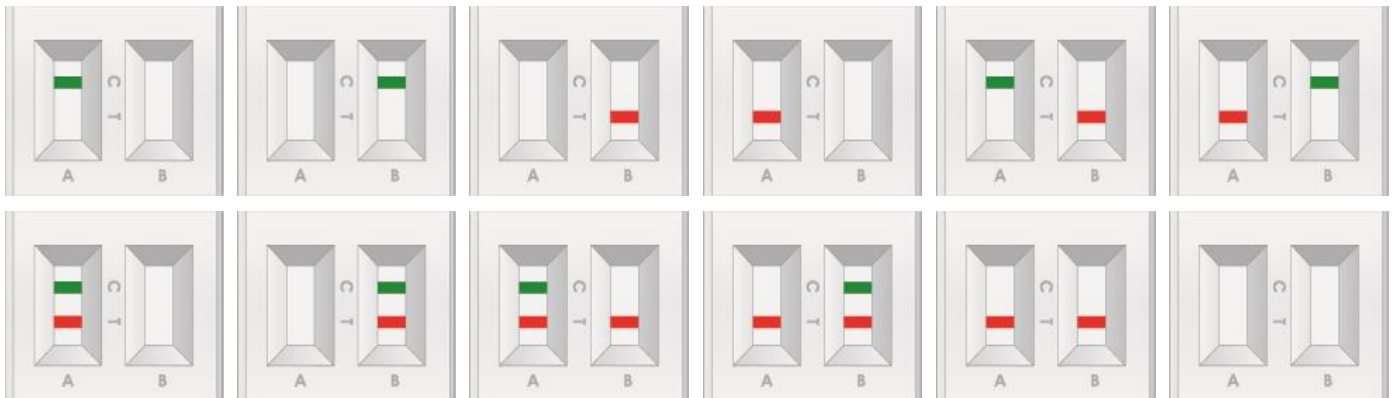
	Toxin A	Toxin B		Interpretation of the results
				A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
4.	NEGATIVE	POSITIVE		There is Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN-RED		
5.	INVALID	INVALID	See below this table.	Invalid result either A or B, we recommend repeating the assay using the same sample with another test. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.
	Any other result	Any other result		

Table A 1.2. CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B performance interpretation of the results.**INVALID RESULTS**

NEGATIVE: Only one GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

The result would be considered as positive independent on the intensity of the RED test line.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigen presents in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

IV. Quality control

INTERNAL CONTROL: control line

Internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

ANNEX 2

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B. Catalogue**reference: CD882001VC**

Annex for the following reference:

PRODUCT	REFERENCE
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials + PC)	CD882001VC

Table A 2. Reference for kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B with positive control.

I. Materials

MATERIALS PROVIDED	MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED
- 20x CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (combo card test format) - 20x Stool collection tubes with diluent -1x CerTest C. difficile Toxin A Positive Control -1x CerTest C. difficile Toxin B Positive Control -2x Testing tube -2x Disposable pipette -2x Positive control reagent tubes (red cap) -1x IFU Instructions for use (including Quick guide use).	- Disposable gloves (other personal protective equipment that will be considered necessary) - Timer - Specimen collection container

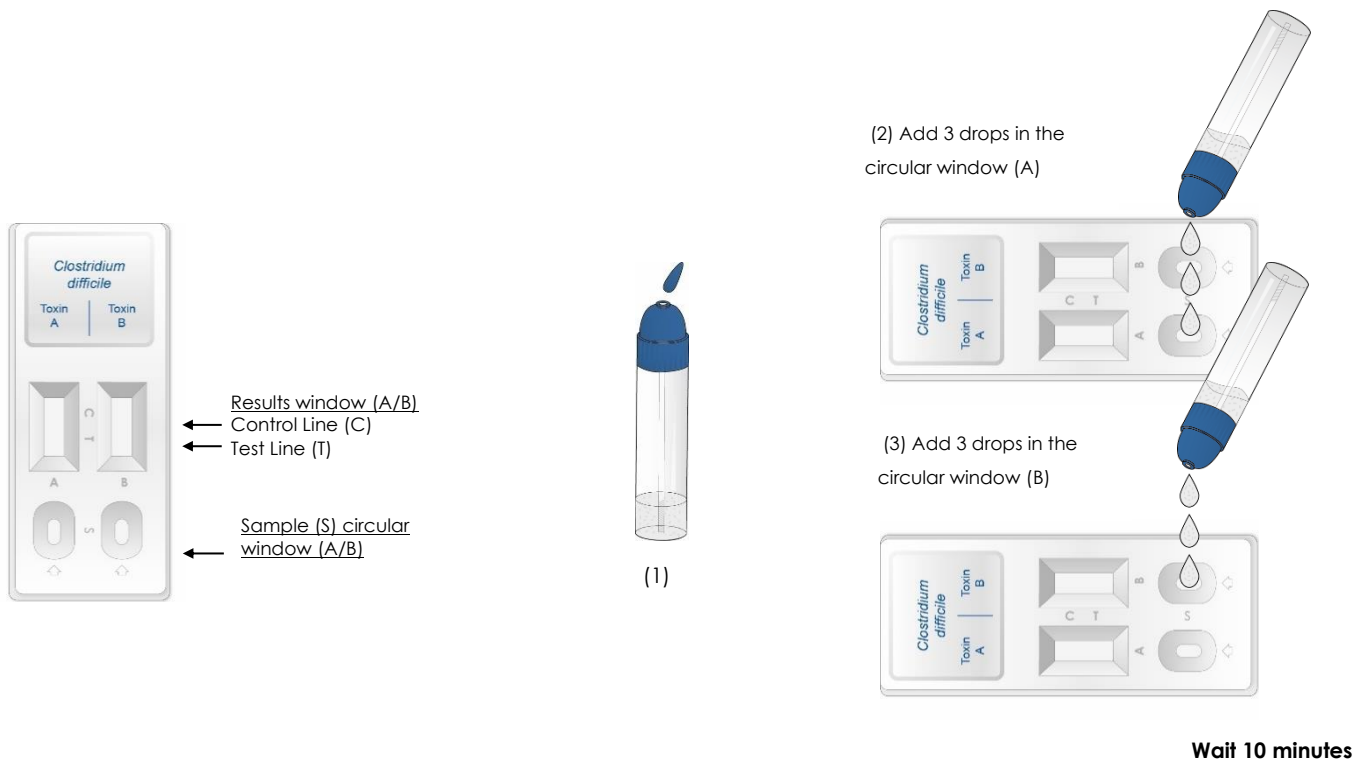
Table A 2.1 Materials necessities for test performance.

II. Test procedures (samples)

Follow proper infection control practices. Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the **stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
2. Remove **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) from its sealed bag just before using it.
3. Take the **stool collection tube**, cut the end of the cap (1) and dispense 3 drops in the circular window marked with the letter A (2), 3 drops, using the same tube, in the circular window marked with letter B (3). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



III. Interpretation of results

(please, refer to the illustration below)

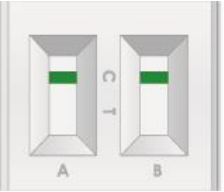
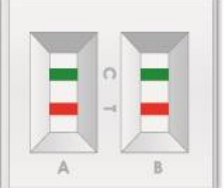
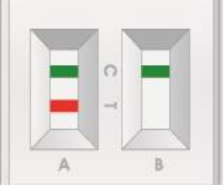
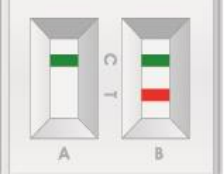
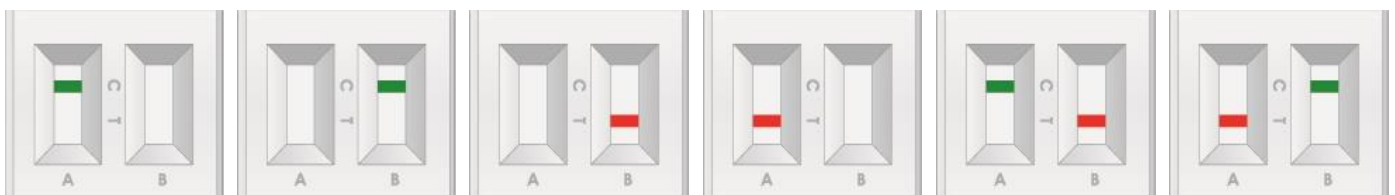
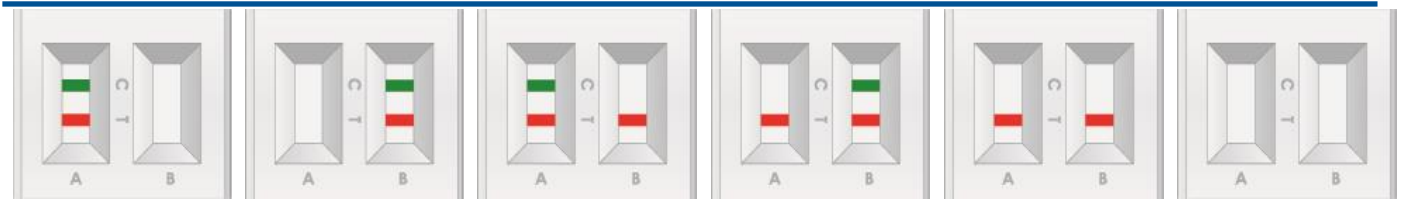
	Toxin A	Toxin B		Interpretation of the results
1.	NEGATIVE	NEGATIVE		There is no Toxin A and Toxin B presence in the sample. No infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. A negative result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN		
2.	POSITIVE	POSITIVE		There are Toxin A and Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN-RED	GREEN-RED		
3.	POSITIVE	NEGATIVE		There is Toxin A presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN-RED	GREEN		
4.	NEGATIVE	POSITIVE		There is Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN-RED		
5.	INVALID	INVALID	See below this table.	Invalid result either A or B, we recommend repeating the assay using the same sample with another test. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.
	Any other result	Any other result		

Table A 2.2 CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B performance interpretation of the results.

INVALID RESULTS





NEGATIVE: Only one GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

The result would be considered as positive independent on the intensity of the RED test line.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigen presents in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

IV. Quality control

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (combo card test) presents four controls:

INTERNAL CONTROL: control line

Internal control: internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

EXTERNAL CONTROL: POSITIVE CONTROL SWABS

External control: CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control and **CerTest *C. difficile* Toxin B Positive Control** (positive control swabs).

A. External positive controls

It is recommended to use the same device for both external positive controls.

1. CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control

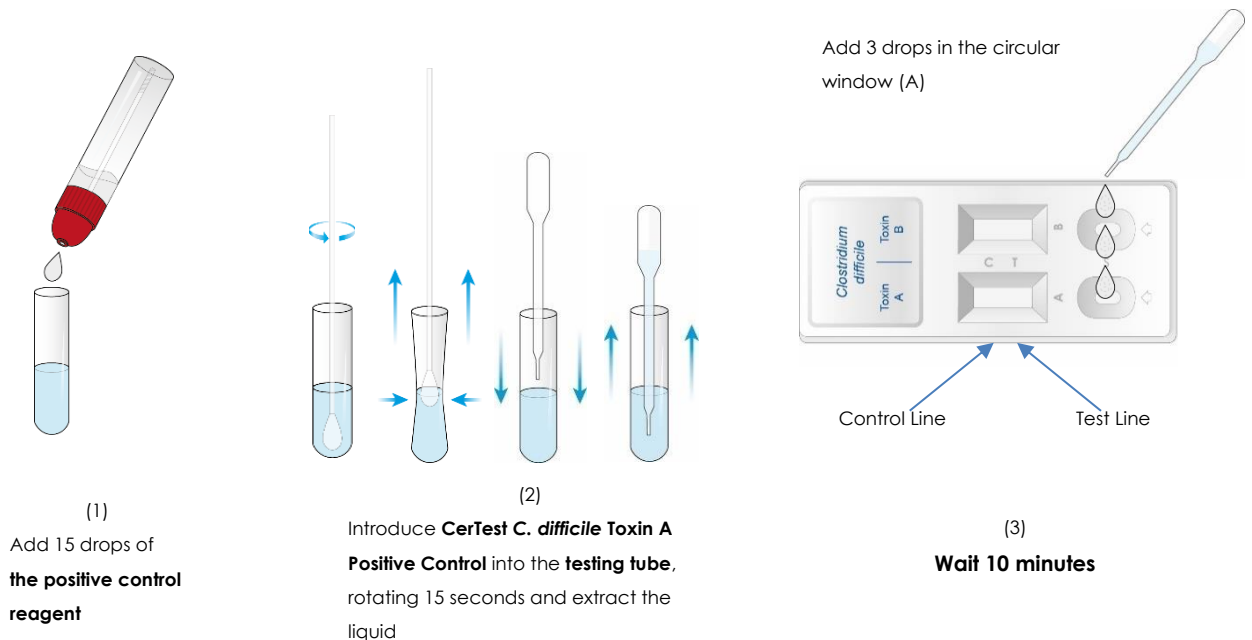
CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control is an external quality control for **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** (Strip A). Use **CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control** to check that the extraction reagents and the test are working properly.

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C, **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

1.1. Positive control procedure

Allow tests and CerTest C. difficile Toxin A Positive Control to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Take the **positive control reagent tube**, cut the end of the cap.
2. Add 15 drops (1) from **positive control reagent tube** into the **testing tube** and immediately introduce **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
3. Mix the solution by rotating **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** forcefully against the side of the **testing tube** at least 15 seconds. Extract as much liquid as possible from **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**, squeezing the sides of the **testing tube** as **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** is withdrawn (2). Discard **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
4. Remove the **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card format) from its sealed bag just before using it.
5. Use a separate **disposable pipette** and test for each control. Dispense 3 drops from the **testing tube** in the circular window marked with the letter A (3).
6. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.



2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control

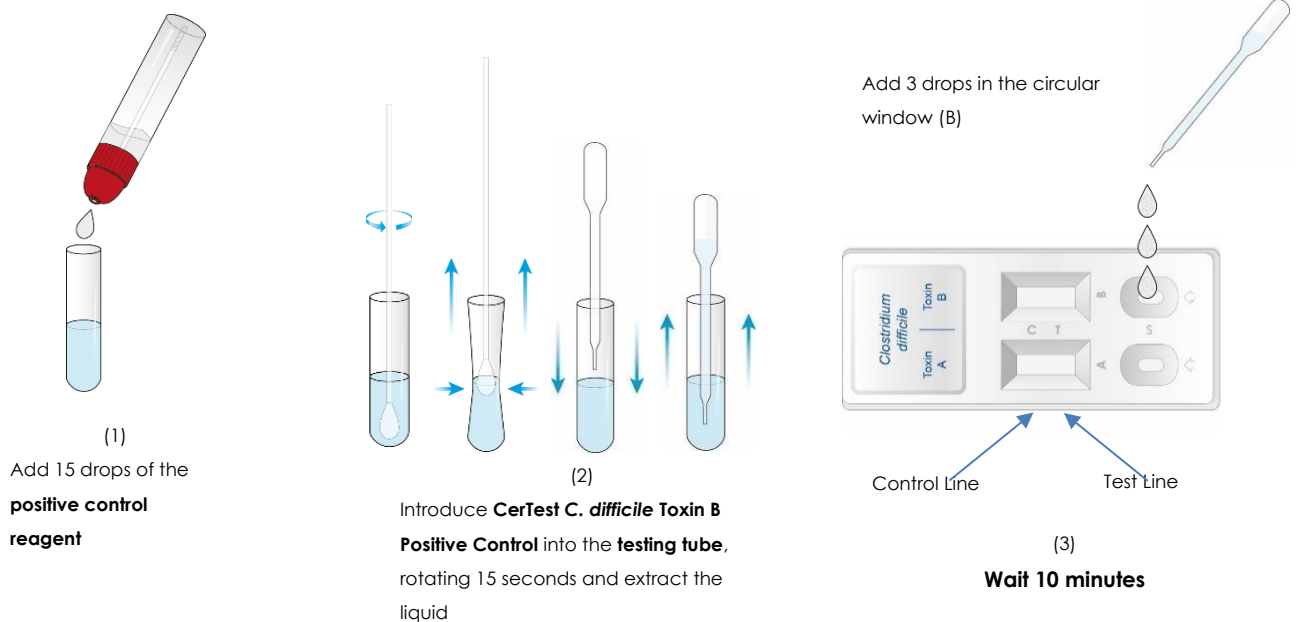
CerTest C. difficile Toxin B Positive Control is an external quality control for **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Strip B). Use **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** to check that the extraction reagents and the test are working properly.

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C, **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

2.1. Positive control procedure

Allow tests and **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Take the **positive control reagent tube**, cut the end of the cap.
2. Add 15 drops (1) from the **positive control reagent tube** into the **testing tube** and immediately introduce the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
3. Mix the solution by rotating the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** forcefully against the side of the **Testing tube** at least 15 seconds. Extract as much liquid as possible from the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**, squeezing the sides of the **testing tube** as the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** is withdrawn (2). Discard **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
4. Remove the **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card format) from its sealed bag just before using it.
5. Use a separate **disposable pipette** and test for each control. Dispense 3 drops from the **testing tube** in the circular window marked with the letter B (3).
6. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.



Positive controls could be tested once for each new test kit opened and as otherwise required by your laboratory's standard quality control procedures.

A.1 Interpretation positive control procedure

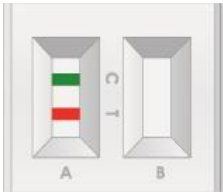
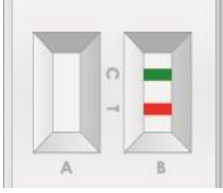
	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control		Interpretation of the results
1.	POSITIVE (One device for both positive controls)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results in each window during the test performance due to presence of Toxin A and Toxin B in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A and Toxin B Positive Control .
	GREEN-RED	GREEN-RED		
2.	POSITIVE (One device for CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results window in strip A due to presence of Toxin A in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control .
	GREEN-RED	-		
3.	POSITIVE (One device for CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results window in strip B due to presence of Toxin B in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control .
	-	GREEN-RED		
4.	INVALID			Total absence of the control coloured line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only the control (C) coloured line (GREEN). Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A and Toxin B Positive Control . If the situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.
	Any other result			

Table A 2.3 CerTest *Clostridium difficile* Toxin A and Toxin B Positive Control performance e interpretation of the results.

ANNEX 3

KIT 20 CARD CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B. Catalogue**reference: CD882001VCC**

Annex for the following reference:

PRODUCT	REFERENCE
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests kit with stool vials +PC +NC)	CD882001VCC

Table A 3. Reference for kit 20 combo card of CerTest Clostridium difficile Toxin A+B with positive and negative control.

I. Materials

MATERIALS PROVIDED	MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED
- 20x CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (combo card test format) -20x Stool collection tubes with diluent. -1x CerTest C. difficile Toxin A Positive Control -1x CerTest C. difficile Toxin B Positive Control -1x CerTest Negative Control -3x Testing tube -3x Disposable pipette -2x Positive control reagent tubes (red cap) -1x IFU Instructions for use (including Quick guide use).	- Disposable gloves (other personal protective equipment that will be considered necessary) - Timer - Specimen collection container

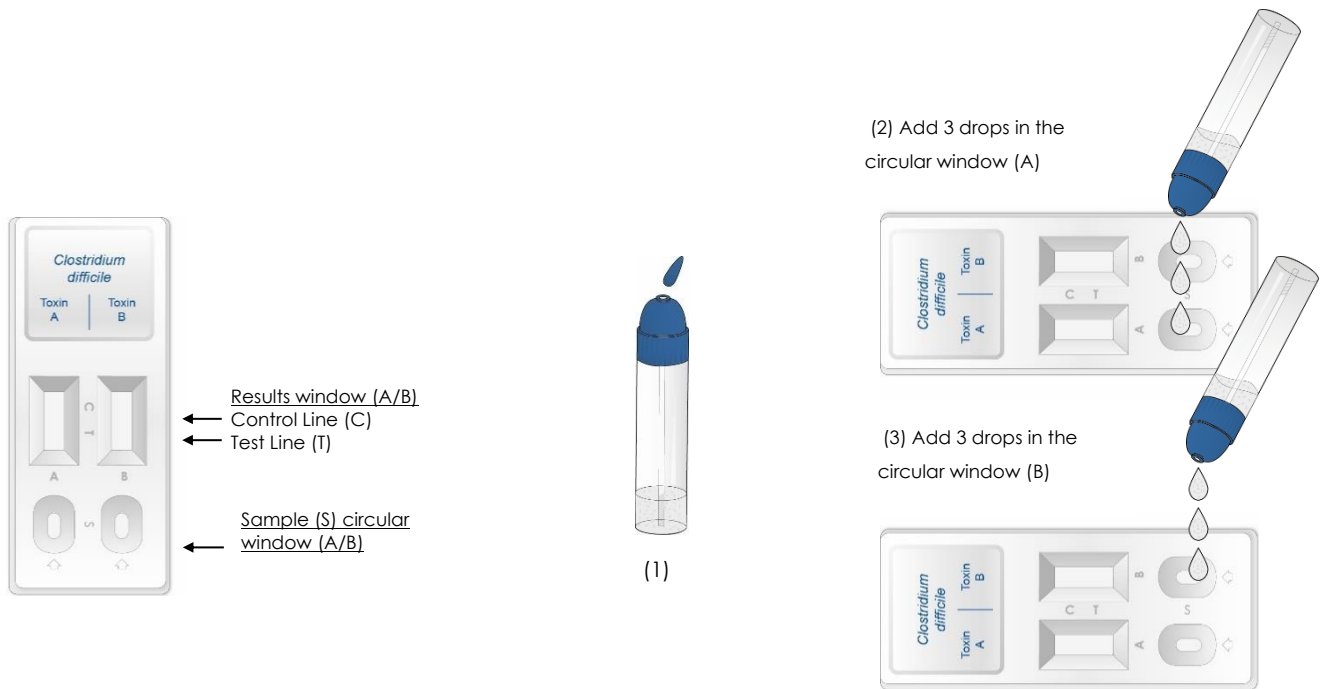
Table A 3.1 Materials necessities for test performance.

II. Test procedures (samples)

Follow proper infection control practices. Allow tests and samples to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until the performance of the assay.

1. Proceed to shake the **stool collection tube** in order to assure good sample dispersion.
2. Remove **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) from its sealed bag just before using it.
3. Take the **stool collection tube**, cut the end of the cap (1) and dispense 3 drops in the circular window marked with the letter A (2), 3 drops, using the same tube, in the circular window marked with letter B (3). Avoid adding solid particles with the liquid.
4. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



III. Interpretation of results

(please, refer to the illustration below)

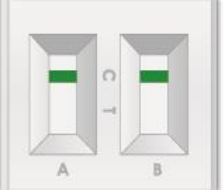
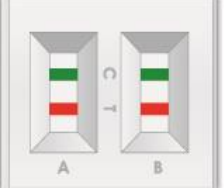
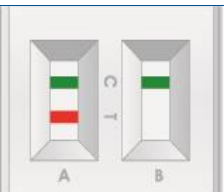
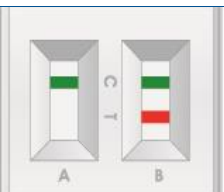
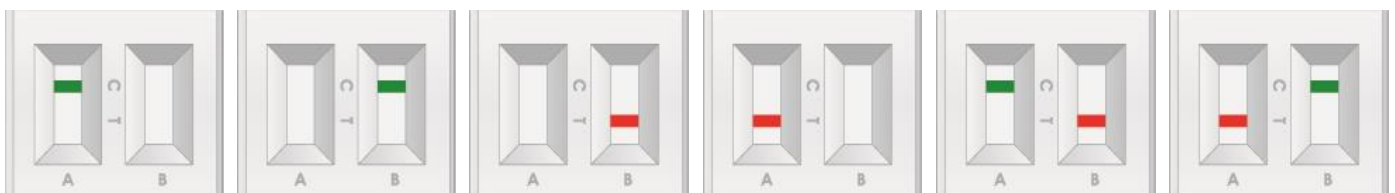
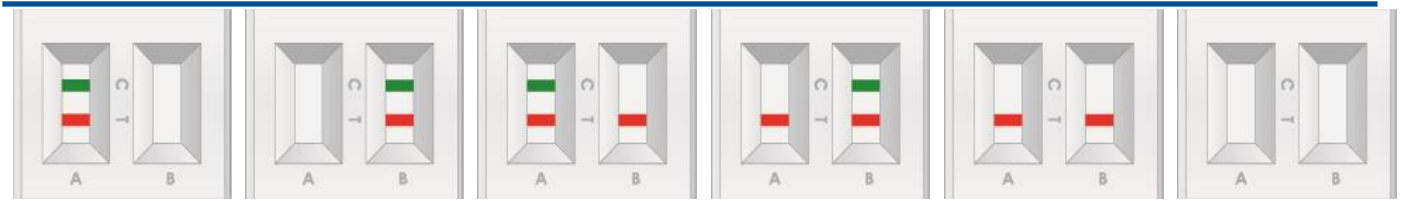
	Toxin A	Toxin B		Interpretation of the results
1.	NEGATIVE	NEGATIVE		There is no Toxin A and Toxin B presence in the sample. No infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. A negative result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN		
2.	POSITIVE	POSITIVE		There are Toxin A and Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN-RED	GREEN-RED		
3.	POSITIVE	NEGATIVE		There is Toxin A presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN-RED	GREEN		
4.	NEGATIVE	POSITIVE		There is Toxin B presence. Possible infection caused by <i>Clostridium difficile</i>. The presence of these lines (control green line and test red line), independent of their intensity should be considered as a positive result. A positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results.
	GREEN	GREEN-RED		
5.	INVALID	INVALID	See below this table.	Invalid result either A or B, we recommend repeating the assay using the same sample with another test. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.
	Any other result	Any other result		

Table A 3.2 CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B performance interpretation of the results.

INVALID RESULTS





NEGATIVE: Only one GREEN line appears across the results window in the site marked with the letter C (control line).

POSITIVE: In addition to the GREEN control line, a RED line also appears in the site marked with the letter T (test line) in the results window.

The result would be considered as positive independent on the intensity of the RED test line.

INVALID: Total absence of the control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test line (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the test line (T) in the results window will vary depending on the concentration of antigen presents in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigen can be determined by this qualitative test.

IV. Quality control

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (combo card test) presents four controls:

INTERNAL CONTROL: control line

Internal control: internal procedural control is included in the test. A green line appearing in the control line (C) in the results window is an internal control, which confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

EXTERNAL CONTROL: POSITIVE CONTROL SWABS

External control: CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control and **CerTest *C. difficile* Toxin B Positive Control** (positive control swabs).

A. External positive controls

It is recommended to use the same device for both external positive controls.

1. CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control

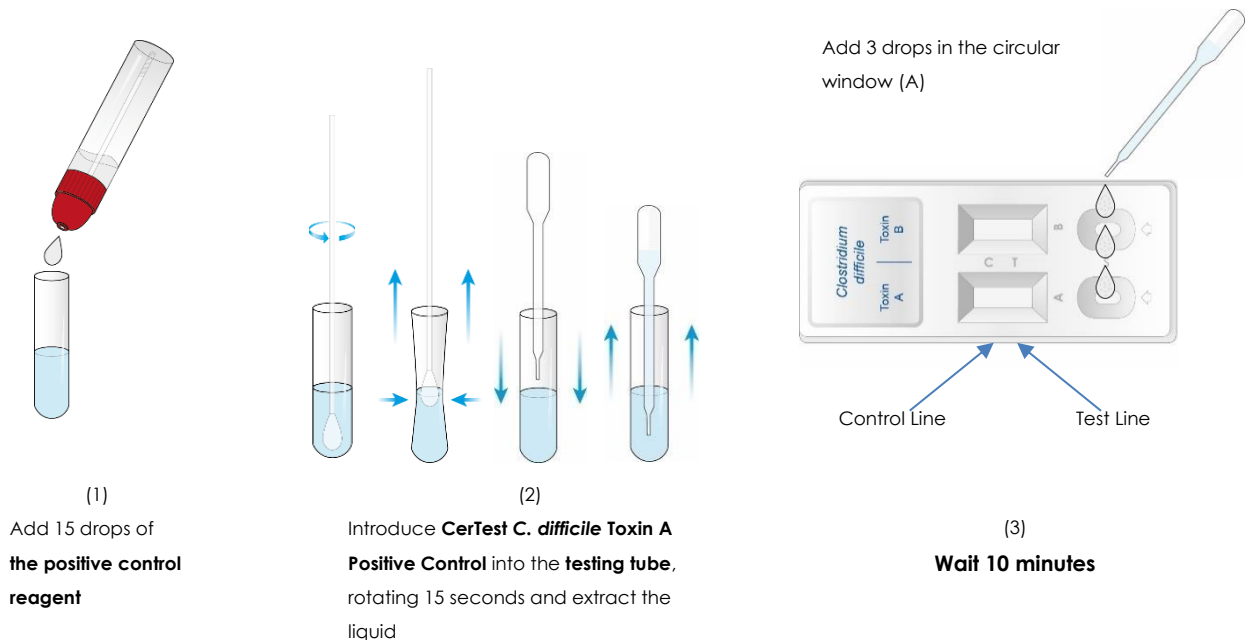
CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control is an external quality control for **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** (Strip A). Use **CerTest *C. difficile* Toxin A Positive Control** to check that the extraction reagents and the test are working properly.

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C, **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

1.1. Positive control procedure

Allow tests and CerTest C. difficile Toxin A Positive Control to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Take the **positive control reagent tube**, cut the end of the cap.
2. Add 15 drops (1) from **positive control reagent tube** into the **testing tube** and immediately introduce **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
3. Mix the solution by rotating **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** forcefully against the side of the **testing tube** at least 15 seconds. Extract as much liquid as possible from **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**, squeezing the sides of the **testing tube** as **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** is withdrawn (2). Discard **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
4. Remove the **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card format) from its sealed bag just before using it.
5. Use a separate **disposable pipette** and test for each control. Dispense 3 drops from the **testing tube** in the circular window marked with the letter A (3).
6. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.



2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control

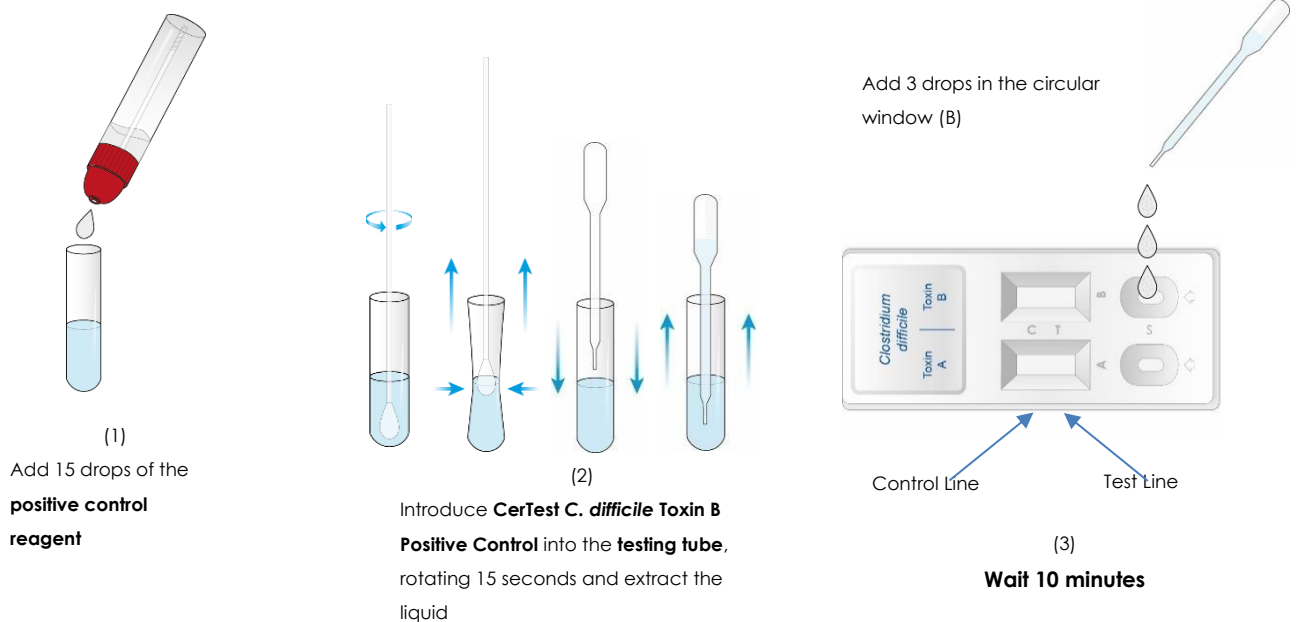
CerTest C. difficile Toxin B Positive Control is an external quality control for **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Strip B). Use **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** to check that the extraction reagents and the test are working properly.

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

2.1. Positive control procedure

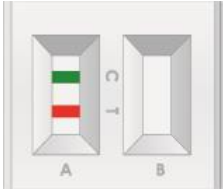
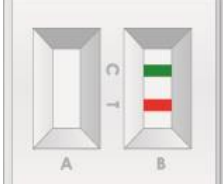
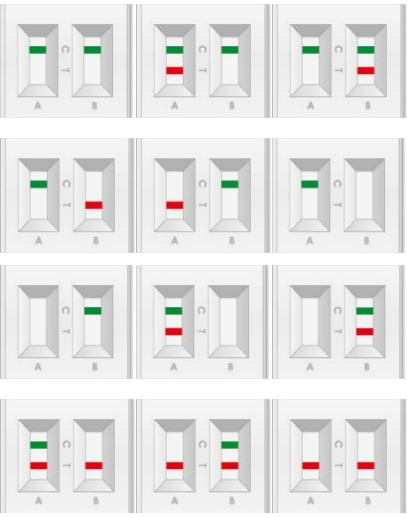
Allow tests and **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Take the **positive control reagent tube**, cut the end of the cap.
2. Add 15 drops (1) from the **positive control reagent tube** into the **testing tube** and immediately introduce the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
3. Mix the solution by rotating the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** forcefully against the side of the **Testing tube** at least 15 seconds. Extract as much liquid as possible from the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**, squeezing the sides of the **testing tube** as the **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** is withdrawn (2). Discard **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
4. Remove the **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card format) from its sealed bag just before using it.
5. Use a separate **disposable pipette** and test for each control. Dispense 3 drops from the **testing tube** in the circular window marked with the letter B (3).
6. **Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.



Positive controls could be tested once for each new test kit opened and as otherwise required by your laboratory's standard quality control procedures.

A.1 Interpretation positive control procedure

	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control		Interpretation of the results
1.	POSITIVE (One device for both positive controls)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results in each window during the test performance due to presence of Toxin A and Toxin B in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A and Toxin B Positive Control.
	GREEN-RED	GREEN-RED		
2.	POSITIVE (One device for CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results window in strip A due to presence of Toxin A in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control.
	GREEN-RED	-		
3.	POSITIVE (One device for CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control)			A GREEN line (control line (C)) and a RED line (test line (T)) appear across the results window in strip B due to presence of Toxin B in CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control.
	-	GREEN-RED		
4.	INVALID			Total absence of the control coloured line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or only the control (C) coloured line (GREEN). Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test and a new CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A and Toxin B Positive Control. If the situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.
	Any other result			

CerTest C.difficile Toxin A Positive Control	CerTest C.difficile Toxin B Positive Control		Interpretation of the results
			Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.

Table A 3.3 CerTest *Clostridium difficile* Toxin A and Toxin B Positive Control performance e interpretation of the results.

B. External negative control. CerTest Negative Control

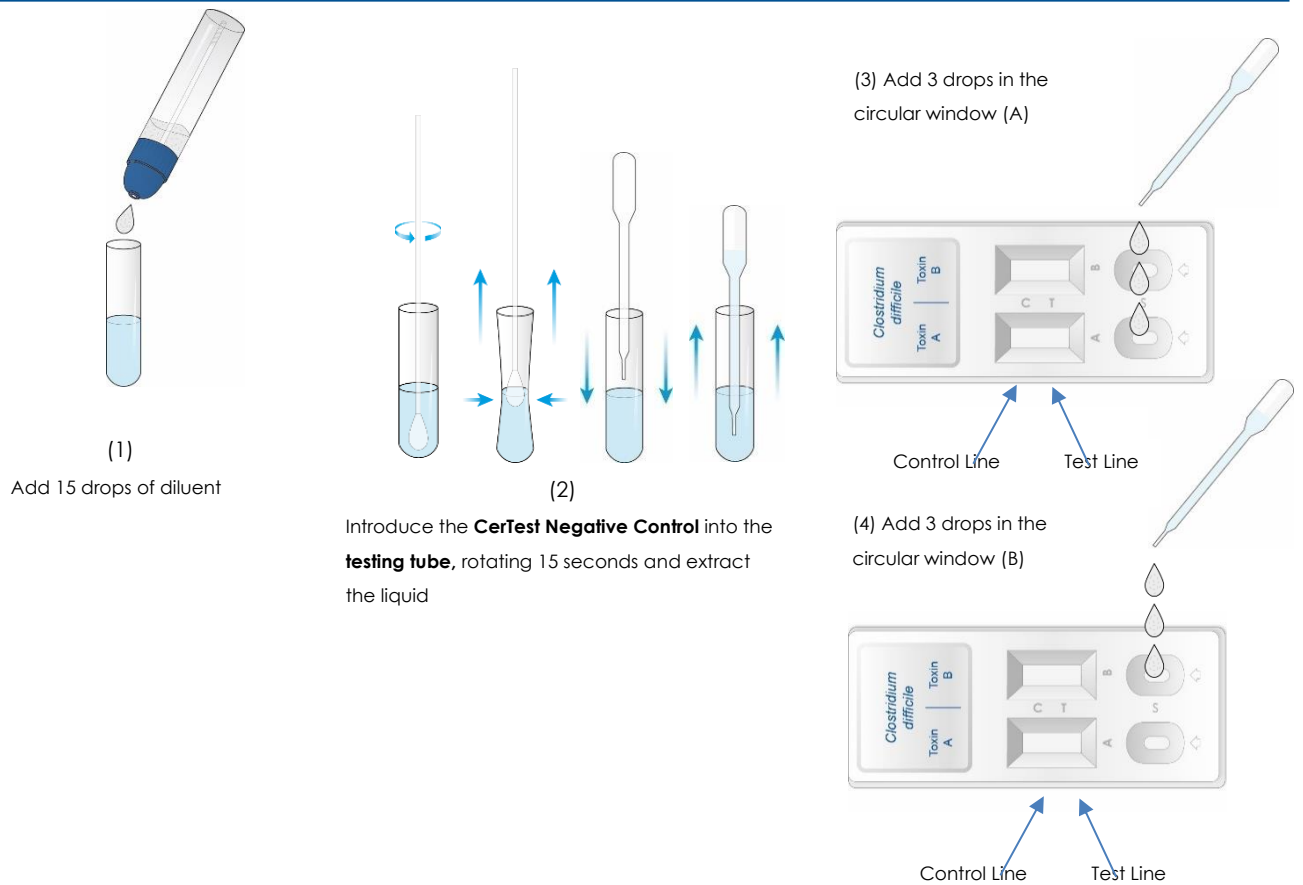
CerTest Negative Control is an external quality control for **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** (Strip A and B). Use **CerTest Negative Control** to check that the extraction reagents and the test are working properly.

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C, **CerTest Negative Control** is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. **CerTest Negative Control** must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

B.1 Negative control procedure

Allow tests and CerTest Negative Control to reach room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open the package until the performance of the assay.

1. Add 15 drops (1) of diluent from the **stool collection tube** into the **testing tube** and immediately put **CerTest Negative Control**.
2. Mix the solution by rotating **CerTest Negative Control** forcefully against the side of the **testing tube** at least 15 seconds. Extract as much liquid as possible from the **CerTest Negative Control**, squeezing the sides of the **testing tube** as **CerTest Negative Control** is withdrawn (2). Discard the **CerTest Negative Control**.
3. Remove the **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** (combo card format) from its sealed bag just before using it.
4. Use a separate **disposable pipette** and test. Dispense 3 drops from the **testing tube** into the circular window marked with letter A (3) dispense 3 drops from the **testing tube** into the circular window marked with letter B(4).
5. **Read the result at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes. Any result read after more than 10 minutes will be considered invalid.



Wait 10 minutes

Negative controls could be tested once for each new test kit opened and as otherwise required by your laboratory's standard quality control procedures.

B.1.1 Interpretation negative control procedure

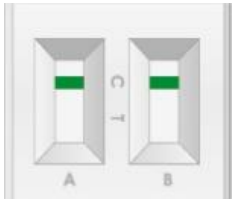
Negative Control		Interpretation of the results
1.	VALID RESULT	
	GREEN (only control band appear)	
2.	INVALID	Total absence of the control-coloured line (GREEN), regardless the appearance or not of the test line (RED), or present of both lines (RED test and GREEN control lines). Incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the control with a new test device and a new CerTest Negative Control. If the situation still persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.
	Any other result	
	Invalid result either A, or B, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.	

Table A 3.4 CerTest Negative Control performance interpretation of the results.

FRANÇAIS

2. Domaine d'utilisation

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B combo card test est un test immunochromatographique en une seule étape pour la détection qualitative simultanée de la Toxine A et de la Toxine B de *Clostridium difficile* dans les échantillons de selles.

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B combo card test offre un dépistage simple et hautement sensible pour réaliser un diagnostic présomptif d'une infection à *Clostridium difficile*.

3. Résumé et explication

Le *Clostridium difficile* (*C. difficile*) est une bactérie anaérobie à Gram positive qui forme des spores et qui est le principal agent étiologique de la diarrhée et la colite ayant une relation directe avec l'utilisation d'antibiotiques (1).

C. difficile est la principale cause de diarrhée associée à la santé dans les pays développés et est la principale cause de morbidité et de mortalité par maladie nosocomiale dans le monde. Bien que traditionnellement considérée comme une infection affectant les patients dans les centres de santé, au cours des 10 à 20 dernières années, l'infection à *C. difficile* est de plus en plus identifiée dans la communauté parmi les personnes non hospitalisées récemment et non exposées aux antibiotiques (2–4).

La maladie causée par *C. difficile* survient lorsque la bactérie est autorisée à proliférer dans le côlon, principalement en raison d'une altération de la microflore intestinale après un traitement antibiotique. En général, l'utilisation d'antibiotiques est associée à un risque trois fois plus élevé d'infection par *C. difficile* associée à la communauté (CA-CDI). Cependant, le risque de CA-CDI dépend fortement de la classe des antibiotiques (1,3).

C. difficile peut libérer deux toxines de haut poids moléculaire, la Toxine A et la Toxine B, qui sont responsables des manifestations cliniques de la maladie, allant d'une diarrhée aqueuse auto-limitante, non grave, à une colite pseudomembraneuse, un mégacôlon toxique jusqu'à la mort. La Glutamate déshydrogénase (GDH) de *Clostridium difficile* est une enzyme produite en grandes quantités par des souches toxigènes et non toxigènes, ce qui en fait un excellent marqueur pour déterminer la présence du micro-organisme (2,5).

L'utilisation d'un essai direct de GDH fécal, avec un test de toxine AB fécale, pourrait améliorer le diagnostic d'infection par *Clostridium difficile*. Les patients présentant une GDH fécale positive mais une toxine négative peuvent être étroitement surveillés en attendant le résultat d'une culture toxigénique (CT), qui est utilisée comme technique de référence pour déterminer une infection à *Clostridium difficile* (5).

La prévention de l'infection par *C. difficile* offre une amélioration potentiellement significative des résultats du patient ainsi qu'une réduction des coûts hospitaliers et des dépenses de ressources. L'utilisation contrôlée des antibiotiques demeure une stratégie de santé publique importante pour réduire les cas d'infection par *C. difficile* (1,3).

4. Principe du test

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B est un test qualitatif immunochromatographique pour la détection qualitative de la Toxine A et de la Toxine B de *Clostridium difficile* dans les selles humaines provenant de patients suspectés d'infection par *Clostridium difficile*.

La Bandelette A consiste en une membrane de nitrocellulose préalablement imprégnée avec des anticorps monoclonaux de souris anti-Toxine A sur la ligne de test (T), dans la fenêtre des résultats, et sur la ligne de contrôle (C), avec des anticorps polyclonaux de lapin anti-protéine spécifique. Le patin d'absorption de l'échantillon est imprégné d'une solution test contenant des anticorps monoclonaux de souris anti-Toxine A conjugués à des billes de polystyrène rouge et d'une solution contrôle contenant une protéine de liaison spécifique conjuguée à des billes de polystyrène verts, formant ainsi deux complexes conjugués colorés.

La Bandelette B consiste en une membrane de nitrocellulose préalablement imprégnée avec des anticorps monoclonaux de souris anti-Toxine B sur la ligne de test (T), dans la fenêtre des résultats, et sur la ligne de contrôle (C), avec des anticorps polyclonaux de lapin anti-protéine spécifique. Le patin d'absorption de l'échantillon est imprégné d'une solution test contenant des anticorps monoclonaux de souris anti-Toxine B conjugués à des billes de polystyrène rouge et d'une solution contrôle contenant une protéine de liaison spécifique conjuguée à des billes de polystyrène verts, formant ainsi deux complexes conjugués colorés.

Si l'échantillon est positif à la Toxine A, les antigènes présents dans l'échantillon dilué réagissent avec les complexes conjugués rouges (anticorps monoclonaux anti-Toxine A -microsphères rouges de latex) présents dans la bandelette A, et si l'échantillon est positif à la Toxine B, les antigènes présents dans l'échantillon dilué réagissent avec les complexes conjugués rouges (anticorps monoclonaux anti-Toxine B -microsphères rouges de latex) présents dans la bandelette B, qui ont préalablement été séchés sur le patin d'absorption de l'échantillon.

Ce mélange progresse ensuite par capillarité à travers la membrane. Au fur à mesure de la progression de l'échantillon à travers la membrane de test, les complexes conjugués migrent. Les anticorps anti-Toxine A présents sur la membrane de la bandelette A (ligne de test) et les anticorps anti-Toxine B présents sur la membrane de la bandelette B (ligne de test) capturent les complexes colorés et permettent l'apparition des deux lignes rouges. Ces lignes servent à l'interprétation des résultats.

Si l'échantillon est négatif, la Toxine A et la Toxine B sont absents ou à une concentration inférieure au seuil de détection, pour laquelle aucune réaction ne se produit avec les complexes colorés rouges. Les anticorps anti-Toxine A et anti-Toxine B présents sur les membranes (lignes de test) ne capturent pas les complexes conjugués colorés rouges (non formés) et pour lesquelles les lignes rouges n'apparaissent pas.

Que l'échantillon soit positif ou non, dans les deux bandelettes, le mélange continue de progresser à travers les membranes jusqu'aux anticorps spécifiques immobilisés placés sur les lignes de contrôle. Ces anticorps anti-protéine spécifique présents sur les deux membranes captureront le complexe témoin vert-conjugué et

les deux lignes de contrôle apparaîtront toujours. La présence de ces lignes vertes sert à : 1) vérifier qu'un volume suffisant est ajouté, 2) qu'un débit correct est obtenu 3) est un contrôle interne pour les réactifs.

5. Conservation et Stabilité

Les kits doivent être conservés entre +2°C et +30°C, dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit. Tous les composants du kit sont destinés à un usage unique et doivent rester dans leur emballage primaire jusqu'à leur utilisation. Ne pas congeler.

6. Précautions pour les utilisateurs

- **Test de diagnostic *in vitro* à usage professionnel uniquement.**
- Lire attentivement les instructions d'utilisation avant d'utiliser le kit.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.
- Ne pas utiliser le kit si l'étiquette qui scelle la boîte est déchirée.
- Ne pas utiliser le produit si la boîte de protection externe ou les pochettes de protection en aluminium sont ouvertes ou endommagées à leur réception.
- Ne pas utiliser les tests (ni les contrôles positifs/négatifs si la référence finale en contient) si le matériau déshydratant n'est pas présent ou est cassé dans le sachet en aluminium.
- Les composants fournis avec le kit sont approuvés pour une utilisation avec **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B**. Ne pas mélanger ou utiliser des composants d'autres kits ou lots. Ne pas utiliser avec des composants d'autres kits commercialisés (par d'autres fournisseurs).
- Tous les composants du kit sont à usage unique. Ne pas réutiliser.
- Suivre les bonnes pratiques de laboratoire, porter des vêtements de protection appropriés, porter des gants jetables ou d'autres équipements de protection individuelle tels que des lunettes et un masque si jugés nécessaires. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.
- Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux, ainsi que les matériaux qui ont été en contact avec les échantillons et doivent être manipulés conformément aux normes locales ou nationales de sécurité. Ils doivent être traités de la même manière qu'un agent infectieux. Utilisez les bonnes pratiques de lutte contre les infections lors de la collecte et de la manipulation des échantillons. Ces pratiques devraient inclure, mais ne sont pas limitées aux équipements de protection individuelle (EPI), la blouse de laboratoire, le masque chirurgical ou tout autre type de masque jugé approprié, ou une protection faciale, les gants jetables et la protection oculaire. Prenez les précautions nécessaires lors de la collecte, du transport, du stockage, de la manipulation, et de l'élimination des échantillons. Chaque échantillon doit être correctement identifié et sans équivoque afin de garantir une traçabilité correcte des échantillons.
- Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter des erreurs de contamination.
- Nettoyer soigneusement les déversements en utilisant un désinfectant approprié.
- Les réactifs contiennent des conservateurs (<0,1% d'azide de sodium). Tout contact avec la peau ou les muqueuses doit être évité. Conformément au règlement (CE) n° 1907/2006 (REACH), **CerTest**

Clostridium difficile Toxin A+B ne contient pas de substances et/ou de mélanges répondant aux critères de classification de danger fixés par le règlement (CE) n° 1272/2008 (CLP) ou qui sont en concentration supérieure à la valeur fixée dans ledit règlement pour leur déclaration. La fiche de données de sécurité n'est pas incluse dans ce produit, mais peut être consultée sur demande auprès de Certest Biotec.

- Le certificat d'analyse n'est pas inclus avec ce produit, cependant, il peut être demandé à Certest Biotec en cas de besoin.
- La présence de lignes jaunâtres dans la fenêtre de résultats (zone de ligne de contrôle et zone de ligne du test), avant d'utiliser le test, est tout à fait normale et n'implique pas une défaillance de la fonctionnalité du test.
- L'interprétation visuelle des résultats en utilisant les lignes de couleurs, l'interprétation des résultats doivent être effectuées par un utilisateur professionnel n'ayant pas de problèmes d'interprétation des couleurs.
- Les tests (flacons, cassettes, contrôles positifs/ négatifs si présents) doivent être jetés dans un récipient de sécurité biologique approprié après utilisation. Ces conteneurs doivent être éliminés conformément aux lois ou réglementations locales ou nationales.

7. Prélèvement et préparation des échantillons.

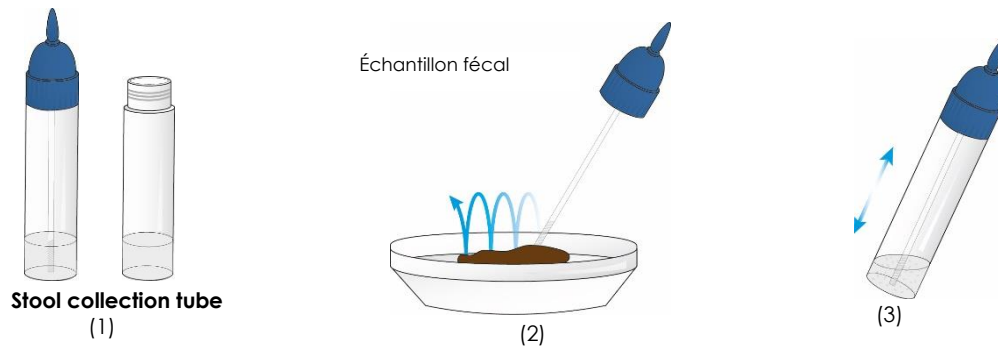
Les échantillons doivent être recueillis dans un récipient propre et traités dès que possible après leur recueil. Suivre les bonnes pratiques de contrôle des infections.

Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante s'ils sont analysés le jour où ils ont été prélevés. La recommandation est de les traiter immédiatement après leur collecte.

Si cela n'est pas possible, les échantillons de selles peuvent être conservés au réfrigérateur (2-8°C) pendant 24 heures au maximum. Pour les conservations de plus longue durée, au maximum 1 an, les échantillons doivent être conservés congelés (-20°C). Dans ce cas, l'échantillon doit être complètement décongelé et ramené à température ambiante pour pouvoir être utilisé dans l'essai. Les cycles de congélation et de décongélation ne sont pas recommandés, de sorte que seule la quantité d'échantillon nécessaire pour effectuer le test doit être décongelée. Homogénéiser vigoureusement les échantillons de selles avant leur préparation.

Préparation de l'échantillon (voir illustration):

1. Dévissez le **stool collection tube** (1) et à l'aide de la baguette, prélevez suffisamment d'échantillon de selles. Puis, introduisez la baguette en une fois dans 4 zones différentes de l'échantillon de selles (2), pour prélever la quantité appropriée de selles (approx. 50 mg) et ajoutez la dans le **stool collection tube**. Pour des échantillons liquides, ajoutez approximativement 125 µL dans le **stool collection tube** en utilisant une micropipette.
2. Fermez le **stool collection tube**. Agitez le tube pour assurer une bonne dispersion de l'échantillon (3).



Poursuivre immédiatement la procédure de test. Voir les annexes. Chaque flacon d'échantillon (contenant l'échantillon) et la cassette avec laquelle l'échantillon sera analysé, doivent être parfaitement reconnaissables, y compris l'identification du patient.

8. Restrictions du test

- 1) Ne pas utiliser le test si 2 heures se sont écoulées après l'ouverture du sachet.
- 2) Un excès d'échantillon peut donner des résultats erronés (des lignes de couleur brune apparaissent). Diluer l'échantillon avec le tampon et répéter le test.
- 3) L'intensité des lignes de tests peut varier de très forte, en raison d'une forte concentration en antigènes, à faible lorsque la concentration en antigènes est proche de la limite de détection du kit.
- 4) **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** ne doit être utilisé qu'avec des échantillons provenant de selles humaines. L'utilisation d'autres échantillons n'a pas été étudiée. La qualité du test dépendra de la qualité de l'échantillon, ce qui veut dire que l'échantillonnage doit être correct.
- 5) Les résultats positifs au test confirment la présence de la Toxine A et de la Toxine B du *Clostridium difficile* dans les selles. Un résultat positif doit être confirmé par d'autres techniques de diagnostic (culture toxigénique) pour déterminer la souche. Une infection confirmée ne doit être constatée par un médecin qu'après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit être basée sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- 6) Un résultat négatif ne peut être considéré comme concluant, car la concentration en antigènes dans les selles peut être inférieure à la limite de détection. Si les symptômes ou la situation persistent, la recherche de *Clostridium difficile* devrait être refait sur un échantillon issu d'une culture d'enrichissement.
- 7) Les échantillons de selles sanglantes peuvent contenir des éléments susceptibles de provoquer des réactions non spécifiques lors du test. Tout échantillon sanglant dont le résultat est positif doit être confirmé par d'autres techniques de diagnostic pour confirmer le résultat.
- 8) Les échantillons de selles glaireuses sont susceptibles de provoquer des réactions non spécifiques lors du test. Tout échantillon de selles glaireuses dont le résultat est positif doit être mis en contraste avec d'autres techniques de diagnostic pour confirmer le résultat.

9. Valeurs attendues

Le *Clostridium difficile* est associé à 95-100% des cas de colite pseudomembraneuse, à 60-75% des cas de colite associés à l'utilisation d'antibiotiques et 35% des cas de diarrhée associés à l'utilisation d'antibiotiques. En outre, près de 223 900 personnes aux États-Unis ont eu besoin de soins hospitaliers pour *C. difficile* et au moins 12 800 personnes sont mortes en 2017. Bien que le taux de prescription d'antibiotiques aux États-Unis ait diminué de 2011 à 2016, on estime qu'au moins 30 % des prescriptions ambulatoires d'antibiotiques sont inutiles, ce qui souligne la nécessité d'améliorer la prescription ambulatoire chez les patients (4-6).

Bien que le développement de nouveaux traitements soit l'une de ces actions clés, ces investissements doivent s'accompagner d'efforts visant à prévenir les infections en premier lieu, freiner le développement de la résistance par une meilleure utilisation des antibiotiques et arrêter la propagation de la résistance (6).

10. Données de performance

A. Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection (LoD) du test **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** est 2 ng/mL de Toxine A de *Clostridium difficile* et 3.12 ng/mL de Toxine B de *Clostridium difficile*. Il n'existe pas de norme externe approuvée comme norme générale et de référence. La norme interne utilisée pour la validation de ce produit Certest est une Toxine A et Toxine B purifiées de *Clostridium difficile*.

B. Sensibilité et spécificité clinique

Une évaluation externe rétrospective (Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Saragosse) avec des échantillons de matières fécales congelées a été réalisée en comparant **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B** avec un autre test immunochromatographique (IC). Des résultats discordants entre les tests IC ont été analysés par qPCR. C'est le critère d'évaluation. Les résultats sont présentés ci-dessous:

Pour la Bandelette A: Toxine A de *Clostridium difficile*

		Critère d'évaluation (Toxine A)		
test IC: CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B (Toxine A)		+	-	Total
	+	51	0	51
	-	1	198	199
	Total	52	198	250

Table 1 Performance de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine A) par rapport au critère d'évaluation.

CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B (Toxine A) vs critère d'évaluation		
	Valeur moyenne	95% intervalle de confiance
Sensibilité	98.1%	89.7-100.0%
Spécificité	100.0%	98.2-100.0%
VPP	100.0%	93.0-100.0%

VPN	99.5%	97.2-100.0%
-----	-------	-------------

Table 2 Résultats cliniques de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine A).**Pour la Bandelette B: Toxine B de *Clostridium difficile***

test IC: CerTest <i>Clostridium</i> <i>difficile</i> Toxin A+B (Toxine B)	Critère d'évaluation (Toxine B)			
		+	-	Total
	+	40	0	40
	-	4	206	210
	Total	44	206	250

Table 3 Performance de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine B) par rapport au critère d'évaluation.

CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B (Toxine B) vs critère d'évaluation		
	Valeur moyenne	95% intervalle de confiance
Sensibilité	90.9%	78.3-97.5%
Spécificité	100.0%	98.2-100.0%
VPP	100.0%	91.2-100.0%
VPN	98.1%	95.2-99.5%

Table 4 Résultats cliniques de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine B).

La dernière évaluation externe rétrospective (avec des échantillons de selles congelées) a montré les résultats suivants :

- **Toxine A:** sensibilité 98.1% (intervalle de confiance à 95% : 89.7-100.0%) et spécificité: 100.0% (intervalle de confiance à 95% : 98.2-100.0%).
- **Toxine B:** sensibilité 90.9% (intervalle de confiance à 95% : 78.3-97.5%) et spécificité: 100.0% (intervalle de confiance à 95% : 98.2-100.0%).

Les résultats ont montré une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter la Toxine A et/ou la Toxine B
CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B.

Pour la Bandelette A: Toxine A de *Clostridium difficile*

N°	Localisation	Type d'échantillon	Reference	Cible
1	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-June 2017	Échantillons de selles humaines	(17.1.1)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A
2	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) April-May 2021	Échantillons de selles humaines	(17.1.2)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin A

Table 5 Résumé des évaluations cliniques. Localisation, type d'échantillon, cible.

N°	VP	FP	FN	VN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	VPP (%) CI (%)	VPN (%) CI (%)
1	28	0	1	97	126	96.9 (92.2-99.9)	100.0 (96.2-100.0)	100.0 (87.7-100.0)	99.0 (94.4-100.0)
2	51	0	1	198	250	98.1 (89.7-100.0)	100.0 (98.2-100.0)	100.0 (93.0-100.0)	99.5 (97.2-100.0)
Total	79	0	2	295	376	97.5 (91.4-99.7)	100.0 (98.8-100.0)	100.0 (95.4-100.0)	99.3 (97.6-99.9)

Table 6 Évaluations cliniques et résultats globaux. Valeurs de vrai positif (VP), de faux positif (FP), faux négatif (FN) et nombre total d'échantillons (N). Sensibilité (Sens), spécificité (Spec), valeur prédictive positive (PPV), valeur prédictive négative (NPV), intervalle de confiance à 95% (CI) de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine A).

Pour la Bandelette B: Toxine B de *Clostridium difficile*

N°	Localisation	Type d'échantillon	Reference	Cible
1	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) Abril-Junio 2017	Échantillons de selles humaines	(17.1.1)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin B
2	Hospital Clínico Lozano Blesa (Zaragoza, Spain) Abril-Mayo 2021	Échantillons de selles humaines	(17.1.2)	<i>Clostridium difficile</i> Toxin B

Table 7 Résumé des évaluations cliniques. Localisation, type d'échantillon, cible.

N°	VP	FP	FN	VN	N	Sens. (%) CI (%)	Spec. (%) CI (%)	VPP (%) CI (%)	VPN (%) CI (%)
1	36	1	0	89	126	100.0 (90.3-100.0)	98.9 (94.0-100.0)	97.3 (85.8-99.9)	100.0 (95.9-100.0)
2	40	0	4	206	250	90.9 (78.3-97.5)	100.0 (98.2-100.0)	100.0 (91.2-100.0)	98.1 (95.2-99.5)
Total	76	1	4	295	376	95.0 (87.7-98.6)	99.7 (98.1-100.0)	98.7 (93.0-100.0)	98.7 (96.6-99.6)

Table 8 Évaluations cliniques et résultats globaux. Valeurs de vrai positif (VP), de faux positif (FP), faux négatif (FN) et nombre total d'échantillons (N). Sensibilité (Sens), spécificité (Spec), valeur prédictive positive (PPV), valeur prédictive négative (NPV), intervalle de confiance à 95% (CI) de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B (Toxine B).

C. Effet Hook

CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B ne montre pas d'effet Hook inhibiteur à une concentration supérieure à 10²xLoD pour la Toxine A de *C. difficile* et supérieure à 10⁴xLoD pour la Toxine B de *C. difficile*.

D. Réactions croisées

Une évaluation a été réalisée pour déterminer les réactions croisées sur le test **CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B**; aucune réaction croisée avec des organismes, des agents pathogènes, des substances susceptibles de provoquer des infections:

Pour la Bandelette A: Toxine A de *Clostridium difficile*

Réactions croisées									
Virus	Adenovirus	-	Coronavirus	-	Influenza B	-	Norovirus GII	-	Rotavirus
	Astrovirus	-	Influenza A	-	Norovirus GI	-	Respiratory Syncytial Virus	-	
Bacteria	Campylobacter coli	-	Escherichia coli O:157	-	Listeria monocytogenes	-	Shigella boydii	-	Streptococcus pneumococcal
	Campylobacter jejuni	-	Escherichia coli O:026	-	Salmonella enteritidis	-	Shigella dysenteriae	-	Streptococcus pyogenes
	Clostridium difficile antigen GDH	-	Escherichia coli O:111	-	Salmonella paratyphi	-	Shigella flexneri	-	Yersinia enterocolitica O:3
	Clostridium difficile Toxin B	-	Helicobacter pylori	-	Salmonella typhi	-	Shigella sonnei	-	Yersinia enterocolitica O:9
	Clostridium perfringens	-	Legionella pneumophila	-	Salmonella typhimurium	-	Staphylococcus aureus	-	
Parasites	Cryptosporidium Parvum	-	Entamoeba histolytica	-	Entamoeba dispar	-	Giardia lamblia	-	
Autres	Hémoglobine de porc	-	Hémoglobine bovine	-		-		-	

Table 9. Résultats des réactions croisées (Toxine A).

Pour la Bandelette B: Toxine B de Clostridium difficile

Réactions croisées									
Virus	Adenovirus	-	Coronavirus	-	Influenza B	-	Norovirus GII	-	Rotavirus
	Astrovirus	-	Influenza A	-	Norovirus GI	-	Respiratory Syncytial Virus	-	
Bacteria	Campylobacter coli	-	Escherichia coli O:157	-	Listeria monocytogenes	-	Shigella boydii	-	Streptococcus pneumococcal
	Campylobacter jejuni	-	Escherichia coli O:026	-	Salmonella enteritidis	-	Shigella dysenteriae	-	Streptococcus pyogenes
	Clostridium difficile antigen GDH	-	Escherichia coli O:111	-	Salmonella paratyphi	-	Shigella flexneri	-	Yersinia enterocolitica O:3
	Clostridium difficile Toxin A	-	Helicobacter pylori	-	Salmonella typhi	-	Shigella sonnei	-	Yersinia enterocolitica O:9
	Clostridium perfringens	-	Legionella pneumophila	-	Salmonella typhimurium	-	Staphylococcus aureus	-	
Parasites	Cryptosporidium Parvum	-	Entamoeba histolytica	-	Entamoeba dispar	-	Giardia lamblia	-	
Autres	Hémoglobine de porc	-	Hémoglobine bovine	-		-		-	

Table 10. Résultats des réactions croisées (Toxine B).

E. Interférences

Une évaluation a été réalisée pour déterminer les interférences possibles du **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B**; aucune interférence avec les substances testées n'a été détectée:

Pour la Bandelette A: Toxine A de Clostridium difficile

	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats
Exogènes	Metronidazole	3.0 mg/mL	Non-interférence	Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>)	0.15 mg/mL	Non-interférence
	Ampicillin	3.0 mg/mL	Non-interférence	Heparin (<i>Hibor</i>)	350.0 IU/mL	Non-interférence
	Oseltamivir	0.3 mg/mL	Non-interférence	Almagato (<i>Almax</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Amantadine	0.3 mg/mL	Non-interférence	Fosfamycin (<i>Monurol</i>)	$3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Non-interférence
	Ribavirin	3.0 mg/mL	Non-interférence	Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Codeine (<i>Toseina</i>)	0.2 mg/mL	Non-interférence	Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Benzocaine (<i>Angileptol</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Levofloxacin	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Cloperastine (<i>Flutox</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Carbocisteine (<i>Iniston mucolítico</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Rifampicin (<i>Rifaldin</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Loratadine	0.3 mg/mL	Non-interférence	Phenoxymethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Dexchlorpheniramine (<i>Polaramine</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Ebastine (<i>Ebastel</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>)	$3.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Non-interférence
	Ibuprofen (<i>Espidifen</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Paracetamol (<i>Dolocetil</i>)	5.0 mg/mL	Non-interférence	Lorazepam	$3.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Non-interférence
	Metamizole (<i>Nolotil</i>)	5.0 mg/mL	Non-interférence	Amoxicillin	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Prednisone	0.3 mg/mL	Non-interférence	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Omeprazole	$2.0 \cdot 10^{-3}$ mg/mL	Non-interférence	Biotine	0.10 mg/mL	Non-interférence
	Naso GEL	0.9 mg/mL	Non-interférence	Sore Throat Phenol spray	0.5 mg/mL	Non-interférence
	CVS Nasal Spray (<i>Cromolyn</i>)	4.0 mg/mL	Non-interférence	Tobramycin	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Afrin (<i>Oxymetazoline</i>)	$5.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Non-interférence	Mupirocin	$2.5 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Non-interférence
	CVS Nasal Drops (<i>Phenylephrine</i>)	10.0 mg/mL	Non-interférence	Fluticasone Propionate	$5.0 \cdot 10^{-2}$ mg/mL	Non-interférence
	ZICAM	1.0 mg/mL	Non-interférence	Homeopathic	DIL 1/10	Non-interférence
	Phenylpropanolamine	0.3 mg/mL	Non-interférence			
Endogènes	Hémoglobine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence	Lactoferrine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence

	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats
	Transferrine humaine	0.5 µg/mL	Non-interférence	Mucine	0.5 %	Non-interférence
	Calprotectine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence	Sang humain	5.0 %	Non-interférence

Table 11 Résultats des interférences à la Toxine A de *Clostridium difficile*.**Pour la Bandelette B: Toxine B de *Clostridium difficile***

	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats
Exogènes	Metronidazole	3.0 mg/mL	Non-interférence	Loperamide hydrochloride (<i>Fortasec</i>)	0.15 mg/mL	Non-interférence
	Ampicillin	3.0 mg/mL	Non-interférence	Heparin (<i>Hibor</i>)	350.0 IU/mL	Non-interférence
	Oseltamivir	0.3 mg/mL	Non-interférence	Almagato (<i>Almax</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Amantadine	0.3 mg/mL	Non-interférence	Fosfamycin (<i>Monurol</i>)	3.0·10 ⁻³ mg/mL	Non-interférence
	Ribavirin	3.0 mg/mL	Non-interférence	Acetylcysteine (<i>Fluimucil</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Codeine (<i>Toseina</i>)	0.2 mg/mL	Non-interférence	Dexketoprofen trometamol (<i>Enantyum</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Benzocaine (<i>Angileptol</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Levofloxacin	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Cloperastine (<i>Flutox</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Ciprofloxacin	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Carbocisteine (<i>Iniston mucolítico</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Rifampicin (<i>Rifaldin</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Loratadine	0.3 mg/mL	Non-interférence	Phenoxymethylpenicillin potassium	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Dexchloropheniramine (<i>Polaramine</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Ambroxol hydrochloride (<i>Mucosan</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Ebastine (<i>Ebastel</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Macrogol 3350 (<i>Movicol</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Acetyl Salicylic (<i>Adiro</i>)	0.3 mg/mL	Non-interférence	Lysine Carbocysteinate (<i>Pectox</i>)	3.0·10 ⁻² mg/mL	Non-interférence
	Ibuprofen (<i>Espidifen</i>)	3.0 mg/mL	Non-interférence	Hydroxyzine dihydrochloride	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Paracetamol (<i>Dolocatil</i>)	5.0 mg/mL	Non-interférence	Lorazepam	3.0·10 ⁻³ mg/mL	Non-interférence
	Metamizole (<i>Nolotil</i>)	5.0 mg/mL	Non-interférence	Amoxicillin	3.0 mg/mL	Non-interférence
	Prednisone	0.3 mg/mL	Non-interférence	Mercaptopurine	0.3 mg/mL	Non-interférence
	Omeprazole	2.0·10 ⁻³ mg/mL	Non-interférence	Biotine	0.10 mg/mL	Non-interférence
	Naso GEL	0.9 mg/mL	Non-interférence	Sore Throat Phenol spray	0.5 mg/mL	Non-interférence
	CVS Nasal Spray (<i>Cromolyn</i>)	4.0 mg/mL	Non-interférence	Tobramycin	0.3 mg/mL	Non-interférence

	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats	Substance interférente potentielle	Concentration	Résultats
	Afrin (Oxymetazoline)	5.0·10 ⁻² mg/mL	Non-interférence	Mupirocin	2.5·10 ⁻² mg/mL	Non-interférence
	CVS Nasal Drops (Phenylephrine)	10.0 mg/mL	Non-interférence	Fluticasone Propionate	5.0·10 ⁻² mg/mL	Non-interférence
	ZICAM	1.0 mg/mL	Non-interférence	Homeopathic	DIL 1/10	Non-interférence
	Phenylpropanolamine	0.3 mg/mL	Non-interférence			
Endogènes	Hémoglobine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence	Lactoferrine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence
	Transferrine humaine	0.5 µg/mL	Non-interférence	Mucine	0.5 %	Non-interférence
	Calprotectine humaine	5.0 µg/mL	Non-interférence	Sang humain	5.0 %	Non-interférence

Table 12 Résultats des interférences à la Toxine B de Clostridium difficile.

F. Répétabilité et reproductibilité

Selon l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité du **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** réalisée avec divers échantillons internes, négatifs et positifs, aucune différence n'a été observée au sein des évaluations.

ANNEXE 1

KIT 20 CASSETTES CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B. Référence: CD882001V

Annexe pour la référence suivante :

PRODUIT	RÉFÉRENCE
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests avec flacons de selles)	CD882001V

Table A 1. Référence pour KIT de 20 cassettes CerTest Clostridium difficile Toxin A+B.

I. Matériel

MATÉRIEL FOURNI	MATÉRIEL NECESSAIRE NON FOURNI
- 20x CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (format combo card test) - 20x Stool collection tubes (avec diluant) - 1x IFU: mode d'emploi (incluant 1x Quick guide, guide d'utilisation rapide).	- Gants jetables (autres équipements de protection individuelle jugés nécessaires) - Chronomètre - Récipient pour prélèvement d'échantillons.

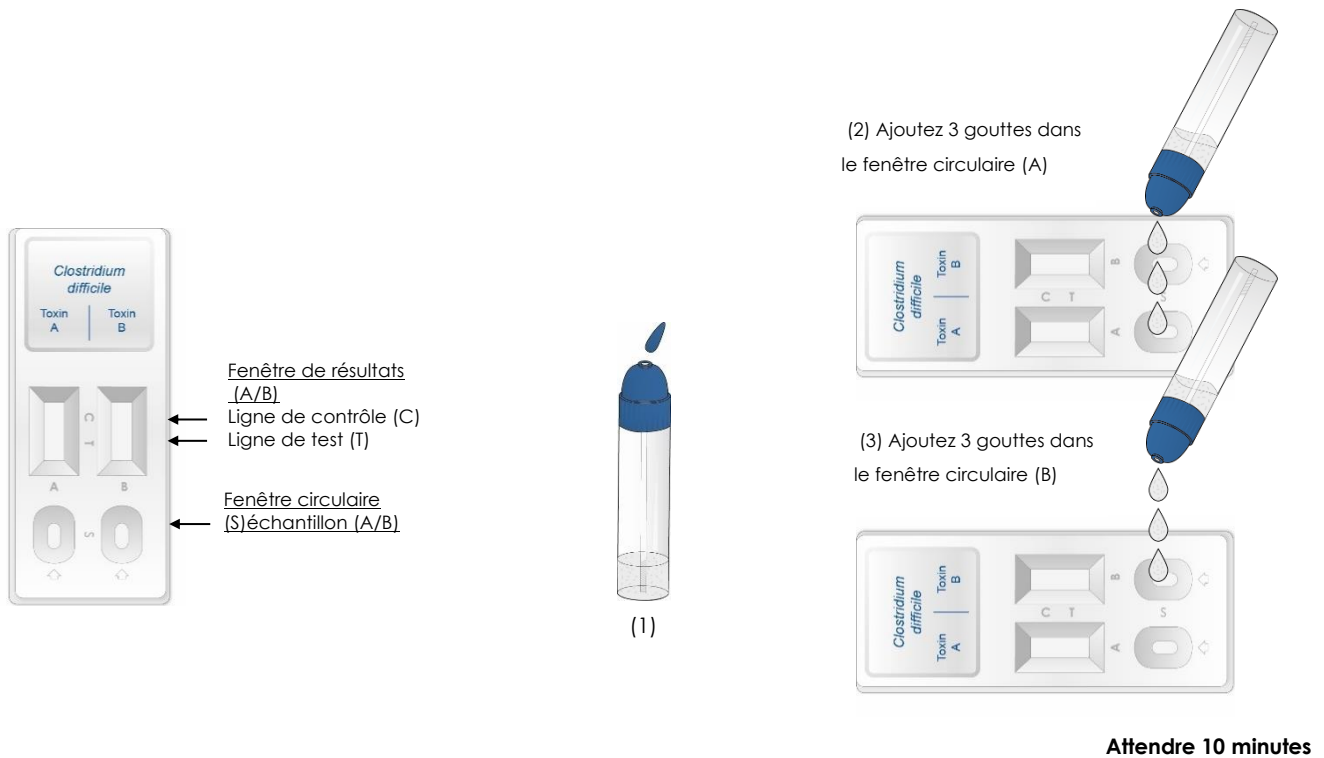
Table A 1.1 Matériel nécessaire à la réalisation du test.

II. Mode opératoire (échantillons)

Suivre les bonnes pratiques de contrôle des infections. S'assurer que les tests et les échantillons soient à température ambiante (15°C-30°C) avant l'utilisation. Ne pas ouvrir l'emballage avant d'effectuer le test.

1. Agiter le **stool collection tube** afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon.
2. Enlever le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (format combo card) de son sachet protecteur au moment de son utilisation.
3. Prendre le **stool collection tube**, couper le bouchon (1) et déposer 3 gouttes de l'échantillon sur la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (2), 3 gouttes, à l'aide du même tube, dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (3). Eviter d'ajouter des particules solides avec le liquide.
4. **Lire le résultat au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.

Si le test ne fonctionne pas en raison de la présence de particules solides dans la fenêtre circulaire, mélanger avec la baguette du tube de prélèvement l'échantillon dans la fenêtre (S). Si cela ne fonctionne pas, ajouter une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide avance sur la zone de résultats.



III. Interprétation des résultats

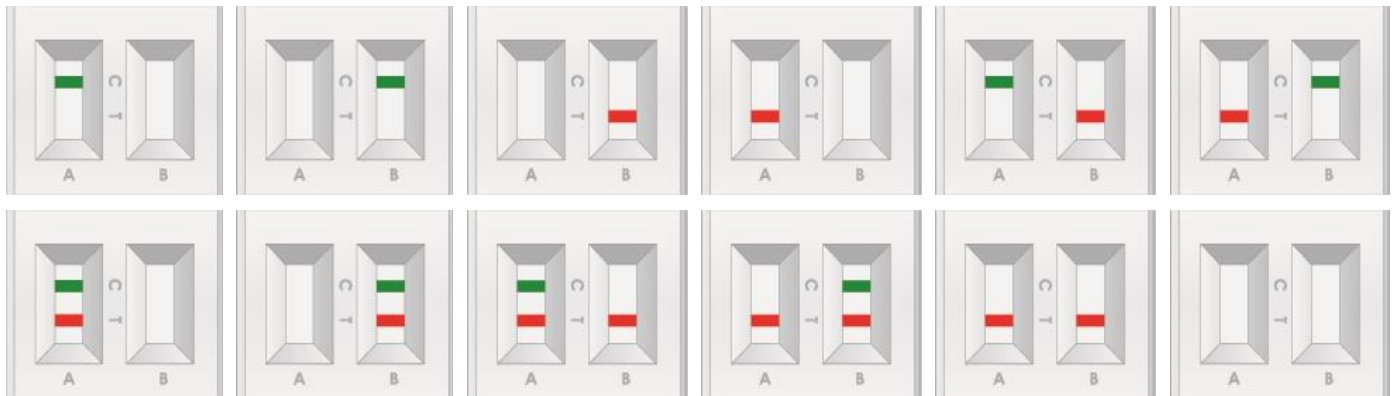
(merci de consulter l'illustration ci-dessous)

	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
1.	NEGATIF	NEGATIF		Il n'y a pas de présence de Toxine A et Toxine B. Il n'y a pas d'infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . Un résultat négatif devrait être vérifié avec d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
2.	POSITIF	POSITIF		Il y a présence de Toxine A et Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
3.	POSITIF	NEGATIF		

	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
	VERT-ROUGE	VERT		Il y a présence de Toxine A. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i>. La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
4.	NEGATIF	POSITIF		Il y a présence de Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i>. La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
5.	NON VALIDE	NON VALIDE	Voir ci-dessous ce tableau.	Tout résultat invalide en A ou B : il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon et un autre test. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme invalide.
	Tout autre résultat	Tout autre résultat		

Table A 1.2 Interprétation des résultats de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B.

RÉSULTATS NON VALIDES



NEGATIF: Une seule ligne de couleur VERTE apparaît sur la fenêtre de résultats du test, sur la zone marquée avec la lettre C (ligne de contrôle).

POSITIF: En plus de la ligne de contrôle VERTE, une ligne ROUGE apparaît sur la zone marquée avec la lettre T (ligne de test) dans la fenêtre de résultats. Le résultat est considéré comme positif quelle que soit l'intensité de la ligne de test ROUGE.

NON VALIDE: Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non. Les causes les plus courantes d'un résultat invalide sont : un volume d'échantillon insuffisant, une procédure incorrecte ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le

test répété avec un nouveau test. Si les symptômes ou la situation persistent, vous devez arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local.

NOTES SUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS L'intensité de la couleur de la ligne rouge dans la zone de résultat du test (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon. Néanmoins ce test est qualitatif, en conséquence ni la quantité ni le taux d'augmentation d'antigènes peuvent être déterminés avec ce dispositif.

IV. Contrôle de qualité

CONTRÔLE INTERNE : ligne de contrôle

Le contrôle interne de fonctionnement est inclus dans le test. La ligne verte qui apparaît dans la zone de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre des résultats constitue le contrôle interne du test, permettant de vérifier si le volume d'échantillon est suffisant et si la procédure du test a été adéquate.

ANNEXE 2

KIT 20 CASSETTES CLOSTRIDIUM DIFFICILE TOXIN A+B. Référence: CD882001VC

Annexe pour la référence suivante :

PRODUIT	RÉFÉRENCE
CerTest Clostridium difficile Toxin A+B Combo Card (20 tests avec flacons de selles + PC)	CD882001VC

Table A 2. Référence pour KIT de 20 cassettes CerTest Clostridium difficile Toxin A+B avec contrôle positif.

I. Matériel

MATÉRIEL FOURNI	MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI
- 20x CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (format combo card test) - 20x Stool collection tubes (avec diluant) - 1x CerTest C. difficile Toxin A Positive Control - 1x CerTest C. difficile Toxin B Positive Control - 2x Testing tube - 2x Disposable pipette - 2x Positive control reagent tubes (bouchon rouge) - 1x IFU: mode d'emploi (incluant 1x Quick guide, guide d'utilisation rapide).	- Gants jetables (autres équipements de protection individuelle jugés nécessaires) - Chronomètre - Récipient pour prélèvement d'échantillons.

Table A 2.1 Matériel nécessaire à la réalisation du test.

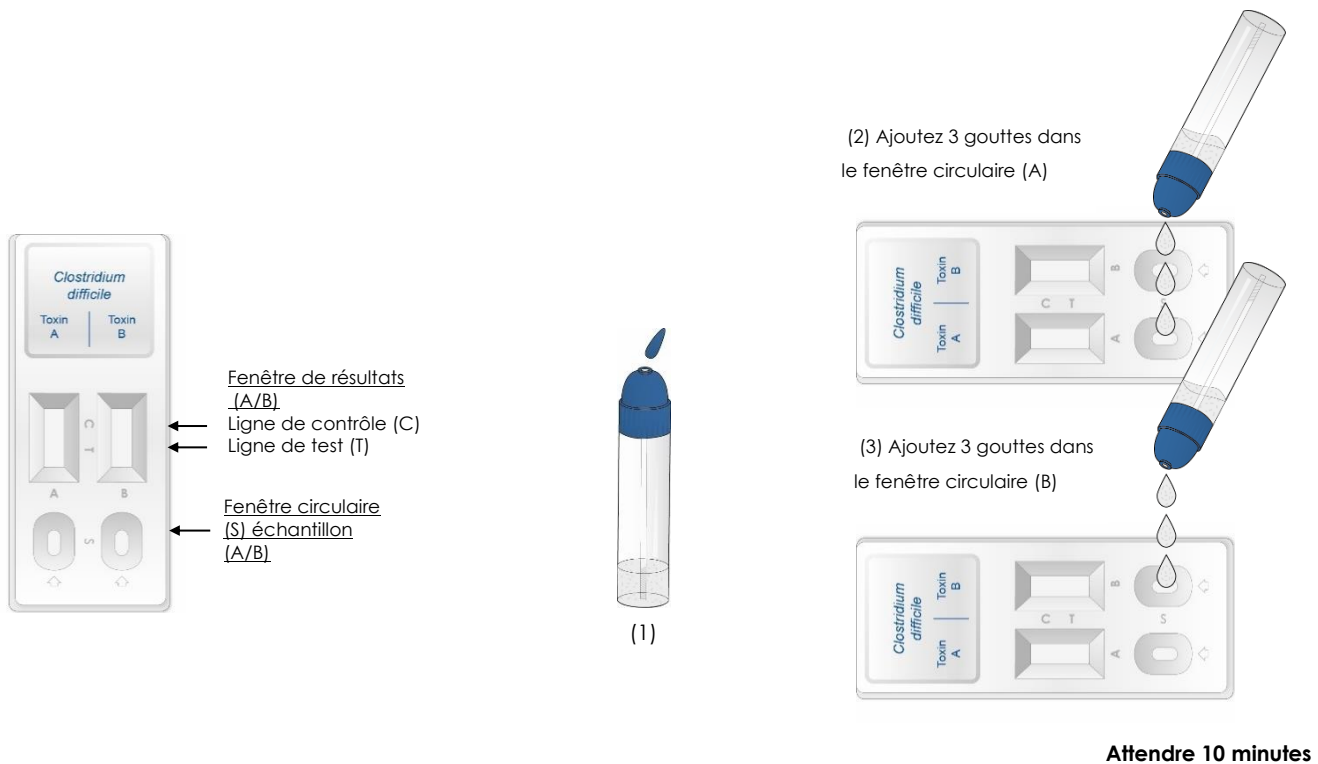
II. Mode opératoire (échantillons)

Suivre les bonnes pratiques de contrôle des infections. S'assurer que les tests et les échantillons soient à température ambiante (15°C-30°C) avant l'utilisation. Ne pas ouvrir l'emballage avant d'effectuer le test.

1. Agiter le **stool collection tube** afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon.

2. Enlever le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (format combo card) de son sachet protecteur au moment de son utilisation.
3. Prendre le **stool collection tube**, couper le bouchon (1) et déposer 3 gouttes de l'échantillon sur la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (2), 3 gouttes, à l'aide du même tube, dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (3). Eviter d'ajouter des particules solides avec le liquide.
4. **Lire le résultat au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.

Si le test ne fonctionne pas en raison de la présence de particules solides dans la fenêtre circulaire, mélanger avec la baguette du tube de prélèvement l'échantillon dans la fenêtre (S). Si cela ne fonctionne pas, ajouter une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide avance sur la zone de résultats.



III. Interprétation des résultats

(merci de consulter l'illustration ci-dessous)

	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
1.	NEGATIF	NEGATIF		Il n'y a pas de présence de Toxine A et Toxine B. Il n'y a pas d'infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . Un résultat négatif devrait être vérifié avec d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
	VERT	VERT		
2.	POSITIF	POSITIF		

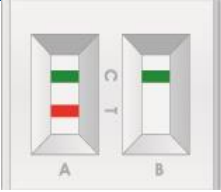
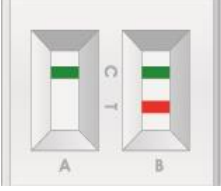
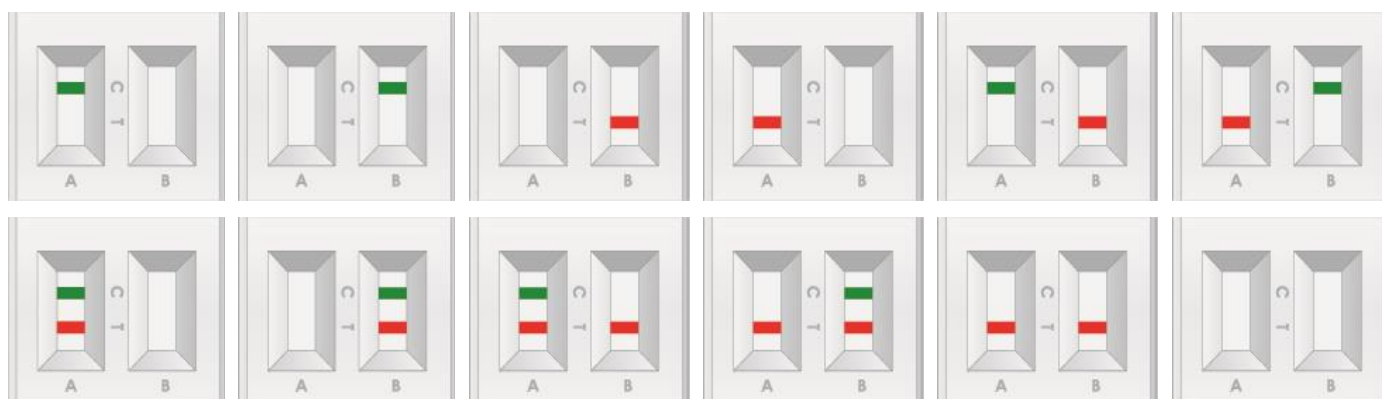
	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE		Il y a présence de Toxine A et Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
3.	POSITIF	NEGATIF		Il y a présence de Toxine A. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
4.	NEGATIF	POSITIF		Il y a présence de Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
5.	NON VALIDE	NON VALIDE	Voir ci-dessous ce tableau.	Tout résultat invalide en A ou B : il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon et un autre test. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme invalide.
	Tout autre résultat	Tout autre résultat		

Table A 2.2 Interprétation des résultats de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B.**RÉSULTATS NON VALIDES**

NEGATIF: Une seule ligne de couleur VERTE apparaît sur la fenêtre de résultats du test, sur la zone marquée avec la lettre C (ligne de contrôle).

POSITIF: En plus de la ligne de contrôle VERTE, une ligne ROUGE apparaît sur la zone marquée avec la lettre T (ligne de test) dans la fenêtre de résultats. Le résultat est considéré comme positif quelle que soit l'intensité de la ligne de test ROUGE.

NON VALIDE: Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non. Les causes les plus courantes d'un résultat invalide sont : un volume d'échantillon insuffisant, une procédure incorrecte ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le test répété avec un nouveau test. Si les symptômes ou la situation persistent, vous devez arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local.

NOTES SUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS L'intensité de la couleur de la ligne rouge dans la zone de résultat du test (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon. Néanmoins ce test est qualitatif, en conséquence ni la quantité ni le taux d'augmentation d'antigènes peuvent être déterminés avec ce dispositif.

IV. Contrôle de qualité

CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (combo card test) comporte quatre contrôles:

CONTRÔLE INTERNE: ligne de contrôle

Contrôle interne: Le contrôle interne de fonctionnement est inclus dans le test. La ligne verte qui apparaît dans la zone de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre des résultats constitue le contrôle interne du test, permettant de vérifier si le volume d'échantillon est suffisant et si la procédure du test a été adéquate.

CONTRÔLE EXTERNE: ÉCOUVILLON CONTRÔLE POSITIF

Contrôle externe: CerTest C. difficile Toxin A Positive Control et CerTest C. difficile Toxin B Positive Control (écouvillons de contrôle positif).

A. Contrôles positifs externes

Il est recommandé d'utiliser le même test pour les deux contrôles externes positifs.

1. CerTest C.difficile Toxin A Positive Control

CerTest C. difficile Toxin A Positive Control est un contrôle de qualité externe pour le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Bandelette A). **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** doit être utilisé pour vérifier que les réactifs d'extraction et le test fonctionnent correctement.

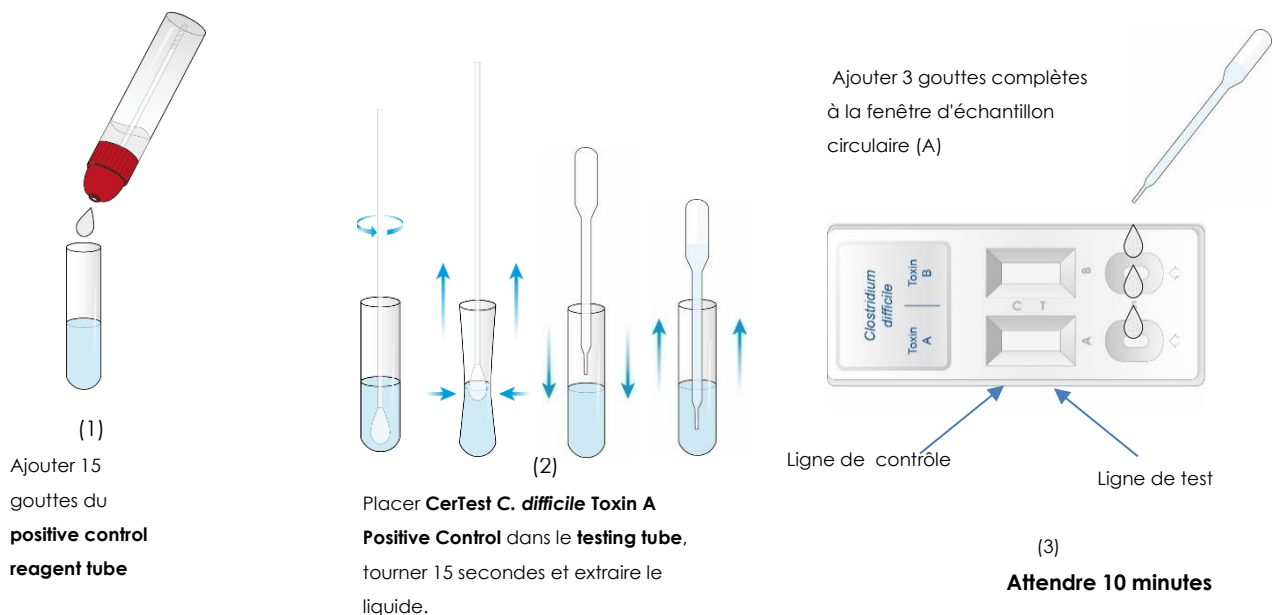
Il doit être conservé entre 2-30 °C dans son emballage d'origine scellé. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** ne doit être ouvert qu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler.

1.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif

Les tests et CerTest C. difficile Toxin A Positive Control doivent être à température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage avant l'essai.

1. Prendre le **positive control reagent tube**, couper la pointe du bouchon.

2. Ajouter 15 gouttes (1) du **positive control reagent tube** dans le **testing tube** et immédiatement introduire **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
3. Mélanger la solution en faisant pivoter le **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** avec force contre la paroi du **testing tube** pendant au moins 15 secondes. Extraire autant de liquide que possible de **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**, en pressant contre la paroi du **testing tube** pendant le retrait du **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** (2). Jeter le **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
4. Retirer le **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) de son emballage de protection juste avant son utilisation.
5. Utiliser une **disposable pipette** différente pour chaque contrôle. Distribuer 3 gouttes de la **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (3).
6. **Lire les résultats du test au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat du test après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.



2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control

CerTest C. difficile Toxin B Positive Control est un contrôle de qualité externe pour le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Bandelette B). **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** doit être utilisé pour vérifier que les réactifs d'extraction et le test fonctionnent correctement.

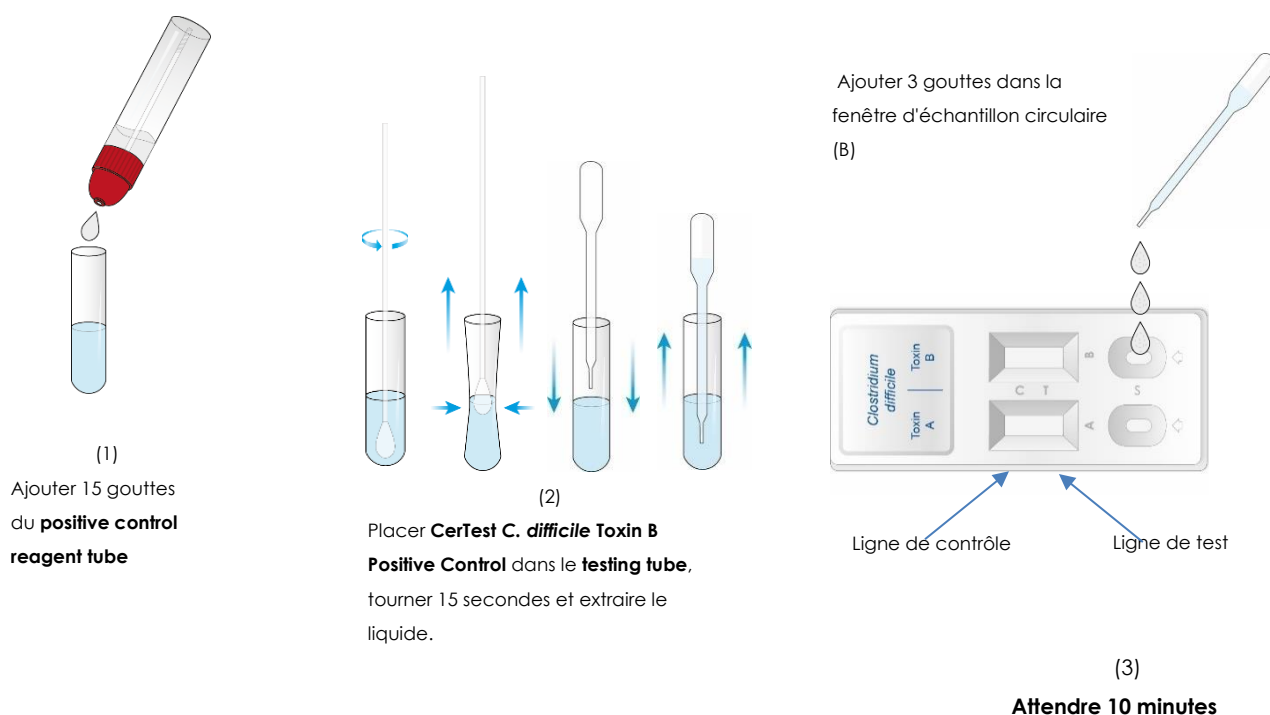
Il doit être conservé entre 2-30 °C dans son emballage d'origine scellé. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** ne doit être ouvert qu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler.

2.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif

Les tests et CerTest C. difficile Toxin B Positive Control doivent être à température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage avant l'essai.

1. Prendre le **positive control reagent tube**, couper la pointe du bouchon.

2. Ajouter 15 gouttes (1) de **positive control reagent tube** dans le **testing tube** et immédiatement introduire **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
3. Mélanger la solution en faisant pivoter le **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** avec force contre la paroi du **testing tube** pendant au moins 15 secondes. Extraire autant de liquide que possible de **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**, en pressant la paroi du **testing tube** pendant le retrait du **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** (2). Jeter le **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
4. Retirer le **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) de son emballage de protection juste avant son utilisation.
5. Utiliser une **disposable pipette** différente pour chaque contrôle. Distribuer 3 gouttes de la **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (3).
6. **Lire les résultats du test au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat du test après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.



Les contrôles positifs peuvent être utilisés chaque fois qu'un nouveau kit est utilisé et comme l'exigent les procédures de contrôle qualité standard de votre laboratoire.

A.1 Interprétation de la procédure contrôle positif

	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin A Positive Control	CerTest <i>C.difficile</i> Toxin B Positive Control	Interprétation des résultats
1.	POSITIF (Une cassette pour les deux contrôles positifs)		Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaissent dans chaque

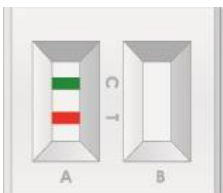
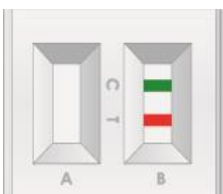
	CerTest C.difficile Toxin A Positive Control	CerTest C.difficile Toxin B Positive Control		Interprétation des résultats
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE		fenêtre de résultat lors du test en raison de la présence de toxine A et de toxine B dans CerTest C. difficile Toxin A et Toxin B Positive Control .
2.	POSITIF (Une cassette pour CerTest C. difficile Toxin A Positive Control)			Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaîtront dans la fenêtre de résultats en raison de la présence de Toxine A sur CerTest C. difficile Toxin A Positive Control .
	VERT-ROUGE	-		
3.	POSITIF (Une cassette pour CerTest C. difficile Toxin B Positive Control)			Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaîtront dans la fenêtre de résultats en raison de la présence de Toxine B sur CerTest C. difficile Toxin B Positive Control .
	-	VERT-ROUGE		
4.	NON VALIDE			Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non, ou si seule la ligne de contrôle (C) (VERT) apparaît. Les causes les plus courantes de l'échec de la ligne de contrôle sont une mauvaise façon de procéder ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le test répété avec un nouveau test et un nouveau CerTest C. difficile Toxin A Positive Control et CerTest C. difficile Toxin B Positive Control. Si la situation se répète, vous devez arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme invalide.
	Tout autre résultat			

Table A 2.3 Interprétation des résultats de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A et Toxin B Positive Control.

ANNEXE 3

KIT 20 CASSETTE *CLOSTRIDIUM DIFFICILE* Toxin A+B. Référence: CD882001VCC

Annexe pour la référence suivante :

PRODUIT	RÉFÉRENCE
CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B Combo Card (20 tests avec flacons de selles+ PC + NC)	CD882001VCC

Tabla A 3. Référence pour kit 20 cassettes de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B avec contrôle positif et négatif.

I. Matériel

MATÉRIEL FOURNI	MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNIS
- 20x CerTest <i>Clostridium difficile</i> Toxin A+B (format combo card test) - 20x Stool collection tubes (avec diluant) - 1x CerTest <i>C. difficile</i> Toxin A Positive Control - 1x CerTest <i>C. difficile</i> Toxin B Positive Control - 1x CerTest Negative Control - 3x Testing tube - 3x Disposable pipette - 2x Positive control reagent tubes (bouchon rouge) - 1x IFU: mode d'emploi (incluant 1x Quick guide, guide d'utilisation rapide).	- Gants jetables (autres équipements de protection individuelle jugés nécessaires) - Chronomètre - Récipient pour prélèvement d'échantillons.

Table A 3.1

Matériel nécessaire à la réalisation du test.

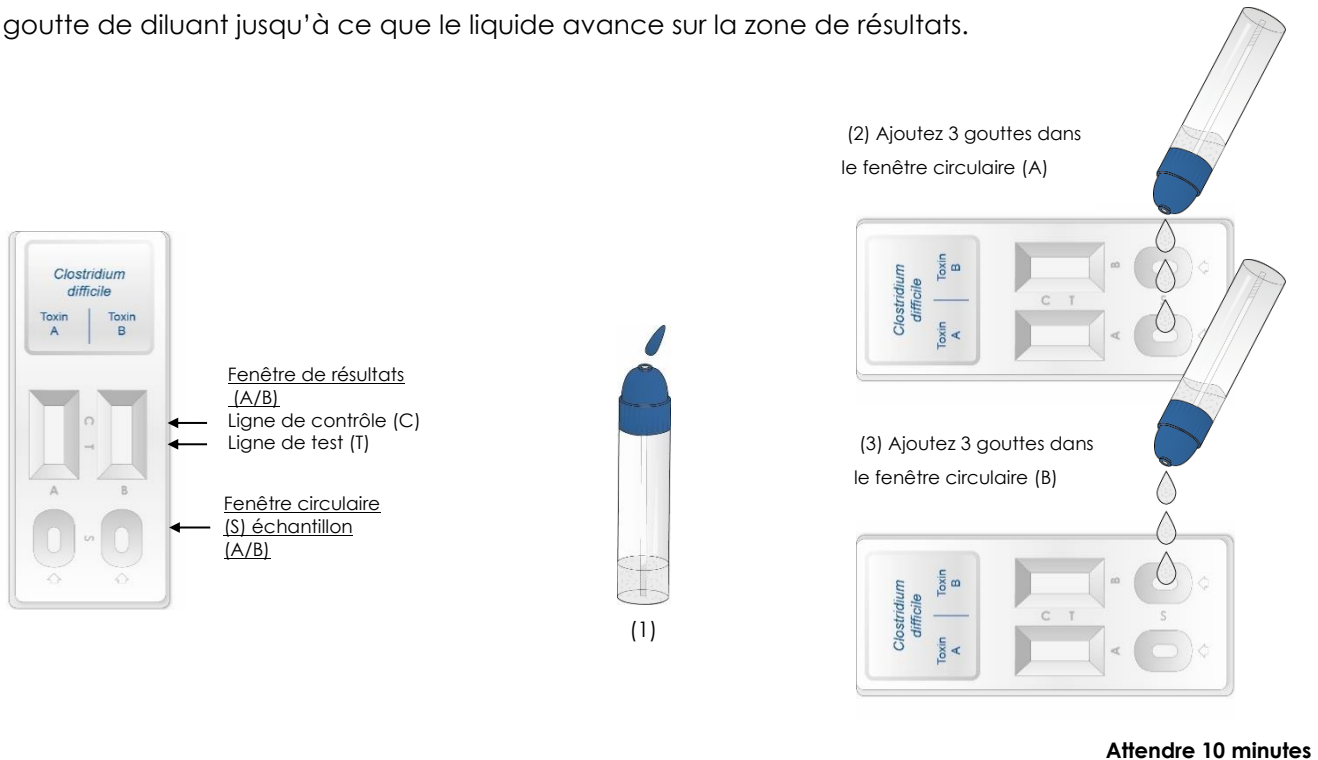
II. Mode opératoire (échantillons)

Suivre les bonnes pratiques de contrôle des infections. S'assurer que les tests et les échantillons soient à température ambiante (15°C-30°C) avant l'utilisation. Ne pas ouvrir l'emballage avant d'effectuer le test.

1. Agiter le **stool collection tube** afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon.

2. Enlever le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (format combo card) de son sachet protecteur au moment de son utilisation.
3. Prendre le **stool collection tube**, couper le bouchon (1) et déposer 3 gouttes de l'échantillon sur la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (2), 3 gouttes, à l'aide du même tube, dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (3). Eviter d'ajouter des particules solides avec le liquide.
4. **Lire le résultat au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.

Si le test ne fonctionne pas en raison de la présence de particules solides dans la fenêtre circulaire, mélanger avec la baguette du tube de prélèvement l'échantillon dans la fenêtre (S). Si cela ne fonctionne pas, ajouter une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide avance sur la zone de résultats.



III. Interprétation des résultats

(merci de consulter l'illustration ci-dessous)

	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
1.	NEGATIF	NEGATIF		Il n'y a pas de présence de Toxine A et Toxine B. Il n'y a pas d'infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . Un résultat négatif devrait être vérifié avec d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
	VERT	VERT		
2.	POSITIF	POSITIF		

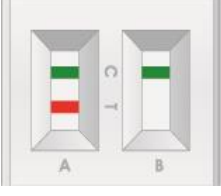
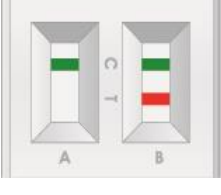
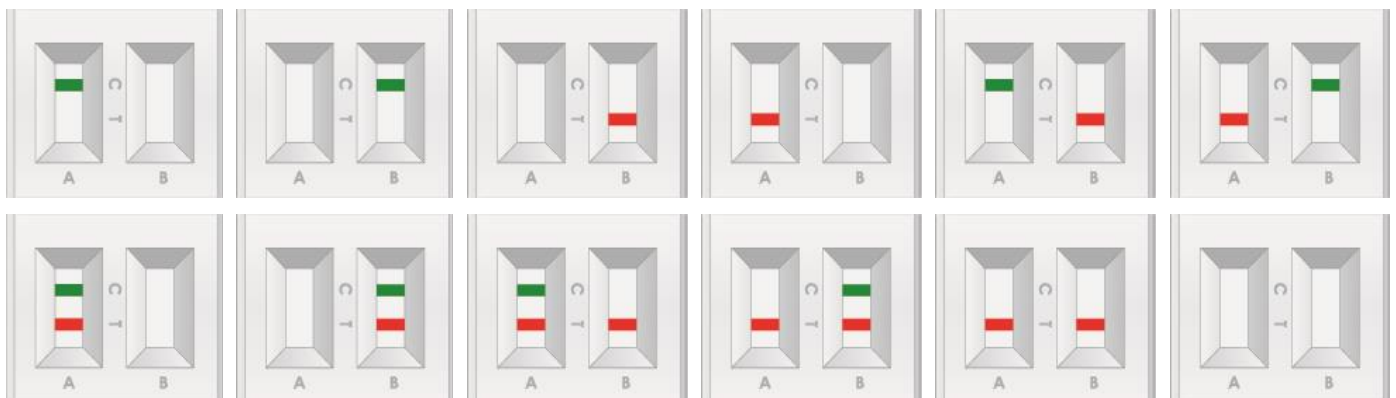
	Toxine A	Toxine B		Interprétation des résultats
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE		Il y a présence de Toxine A et Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
3.	POSITIF	NEGATIF		Il y a présence de Toxine A. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
4.	NEGATIF	POSITIF		Il y a présence de Toxine B. Possible infection causée par <i>Clostridium difficile</i> . La présence de ces lignes (ligne verte de contrôle et rouge de test), quelle que soit leur intensité, devrait être considérée comme un résultat positif. Un résultat positif devrait être vérifié par d'autres techniques de laboratoire pour confirmer les résultats.
5.	NON VALIDE	NON VALIDE	Voir ci-dessous ce tableau.	Tout résultat invalide en A ou B : il est recommandé de répéter le test avec le même échantillon et un autre test. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme invalide.
	Tout autre résultat	Tout autre résultat		

Table A 3.2 Interprétation des résultats de CerTest *Clostridium difficile* Toxin A+B.**RÉSULTATS NON VALIDES**

NEGATIF: Une seule ligne de couleur VERTE apparaît sur la fenêtre de résultats du test, sur la zone marquée avec la lettre C (ligne de contrôle).

POSITIF: En plus de la ligne de contrôle VERTE, une ligne ROUGE apparaît sur la zone marquée avec la lettre T (ligne de test) dans la fenêtre de résultats. Le résultat est considéré comme positif quelle que soit l'intensité de la ligne de test ROUGE.

NON VALIDE: Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non. Les causes les plus courantes d'un résultat invalide sont : un volume d'échantillon insuffisant, une procédure incorrecte ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le test répété avec un nouveau test. Si les symptômes ou la situation persistent, vous devez arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local.

NOTES SUR L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS L'intensité de la couleur de la ligne rouge dans la zone de résultat du test (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon. Néanmoins ce test est qualitatif, en conséquence ni la quantité ni le taux d'augmentation d'antigènes peuvent être déterminés avec ce dispositif.

IV. Contrôle de qualité

CerTest Clostridium difficile Toxin A+B (combo card test) comporte quatre contrôles:

CONTRÔLE INTERNE : ligne de contrôle

Contrôle interne: Le contrôle interne de fonctionnement est inclus dans le test. La ligne verte qui apparaît dans la zone de la ligne de contrôle (C) dans la fenêtre des résultats constitue le contrôle interne du test, permettant de vérifier si le volume d'échantillon est suffisant et si la procédure du test a été adéquate.

CONTRÔLE EXTERNE: ÉCOUVILLONS DE CONTRÔLES POSITIFS

Contrôle externe: **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** et **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** (écouvillons de contrôles positifs).

A. Contrôles positifs externes

Il est recommandé d'utiliser le même test pour les deux contrôles positifs externes.

1. **CerTest C.difficile Toxin A Positive Control**

CerTest C. difficile Toxin A Positive Control est un contrôle de qualité externe pour le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Bandelette A). **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** doit être utilisé pour vérifier que les réactifs d'extraction et le test fonctionnent correctement.

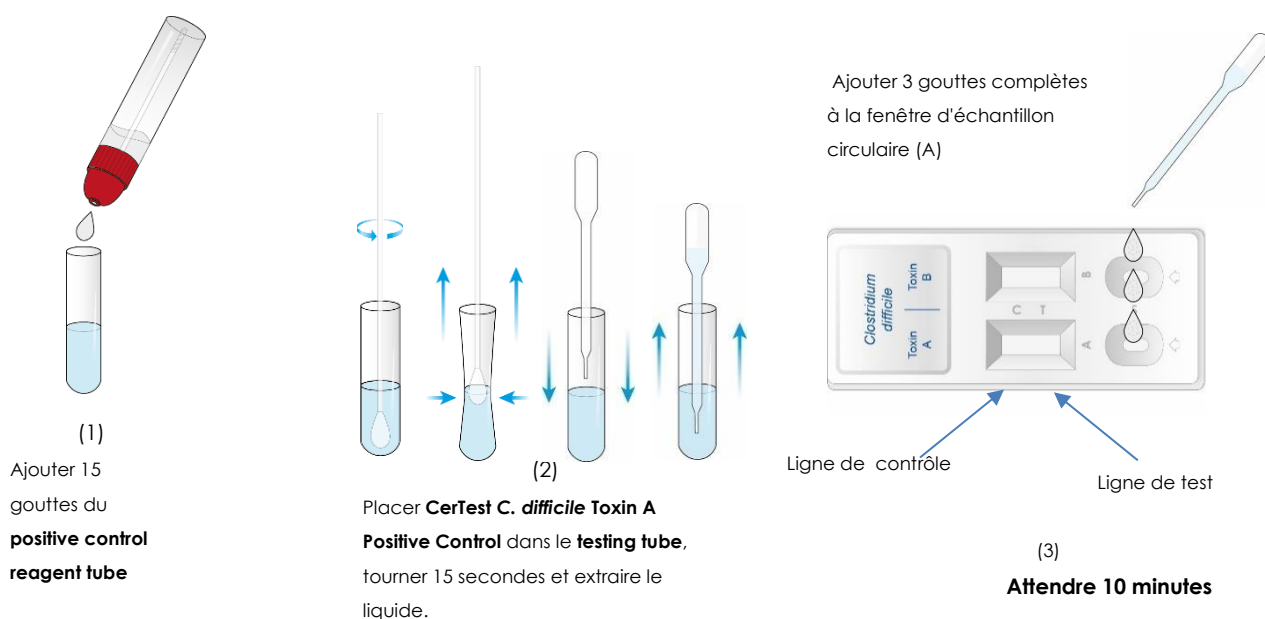
Il doit être conservé entre 2-30 °C dans son emballage d'origine scellé. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** ne doit être ouvert qu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler.

1.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif

Les tests et CerTest C. difficile Toxin A Positive Control doivent être à température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage avant l'essai.

1. Prendre le **positive control reagent tube**, couper la pointe du bouchon.

2. Ajouter 15 gouttes (1) du **positive control reagent tube** dans le **testing tube** et immédiatement introduire **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
3. Mélanger la solution en faisant pivoter le **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** avec force contre la paroi du **testing tube** pendant au moins 15 secondes. Extraire autant de liquide que possible de **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**, en pressant contre la paroi du **testing tube** pendant le retrait du **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control** (2). Jeter le **CerTest C. difficile Toxin A Positive Control**.
4. Retirer le **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) de son emballage de protection juste avant son utilisation.
5. Utiliser une **disposable pipette** différente pour chaque contrôle. Distribuer 3 gouttes de la **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (3).
6. **Lire les résultats du test au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat du test après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.



2. CerTest C. difficile Toxin B Positive Control

CerTest C. difficile Toxin B Positive Control est un contrôle de qualité externe pour le test **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Bandelette B). **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** doit être utilisé pour vérifier que les réactifs d'extraction et le test fonctionnent correctement.

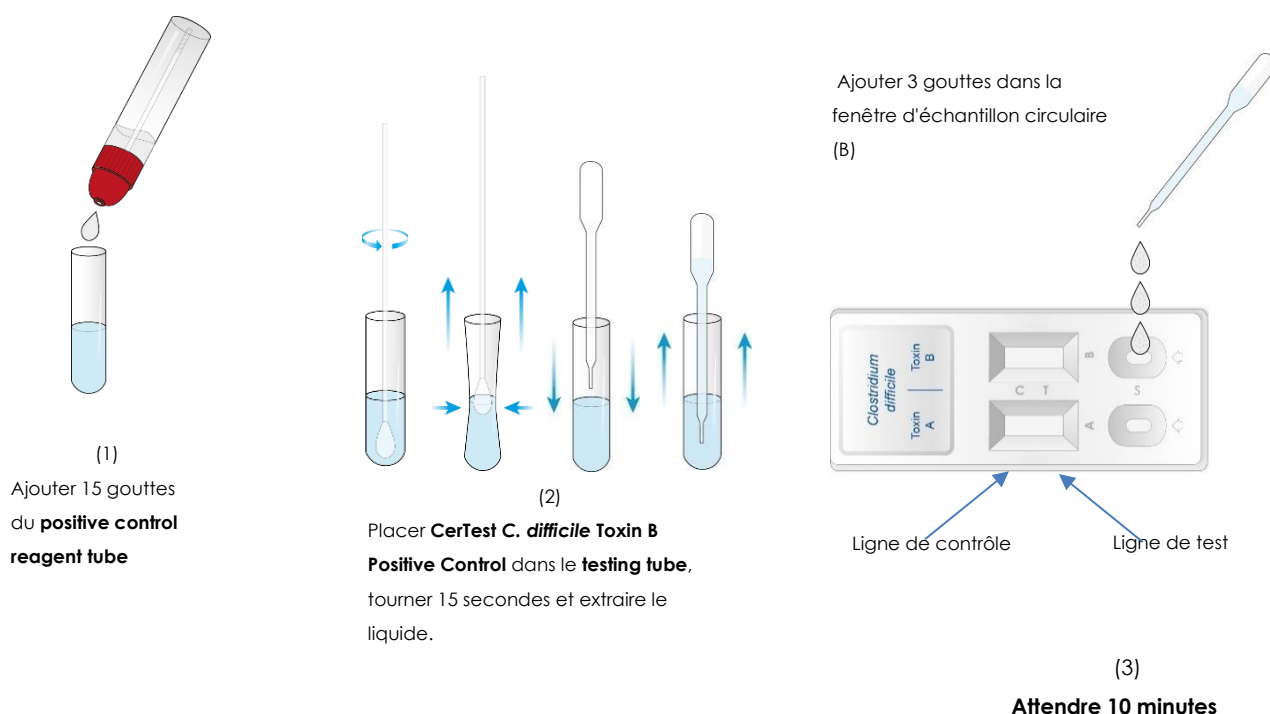
Il doit être conservé entre 2-30 °C dans son emballage d'origine scellé. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** ne doit être ouvert qu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler.

2.1. Procédure d'utilisation du Contrôle positif

Les tests et **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** doivent être à température ambiante (15-30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage avant l'essai.

1. Prendre le **positive control reagent tube**, couper la pointe du bouchon.

2. Ajouter 15 gouttes (1) de **positive control reagent tube** dans le **testing tube** et immédiatement introduire **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
3. Mélanger la solution en faisant pivoter le **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** avec force contre la paroi du **testing tube** pendant au moins 15 secondes. Extraire autant de liquide que possible de **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**, en pressant la paroi du **testing tube** pendant le retrait du **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control** (2). Jeter le **CerTest C. difficile Toxin B Positive Control**.
4. Retirer le **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) de son emballage de protection juste avant son utilisation.
5. Utiliser une **disposable pipette** différente pour chaque contrôle. Distribuer 3 gouttes de la **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (3).
6. **Lire les résultats du test au bout de 10 minutes.** Ne pas lire le résultat du test après 10 minutes. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme non valide.



Les contrôles positifs peuvent être utilisés chaque fois qu'un nouveau kit est utilisé et comme l'exigent les procédures de contrôle qualité standard de votre laboratoire.

A.1 Interprétation de la procédure de contrôle positif

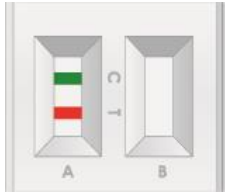
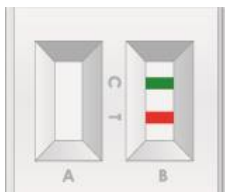
	CerTest C.difficile Toxin A Positive Control	CerTest C.difficile Toxin B Positive Control		Interprétation des résultats
1.	POSITIF (Une cassette pour les deux contrôles positifs)			Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaissent dans chaque fenêtre de résultats lors de l'exécution du test en raison de la présence de la toxine A et de la toxine B dans CerTest C. difficile Toxin A et Toxine B Positive Control .
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE		
2.	POSITIF (Une cassette pour CerTest C. difficile Toxin A Positive Control)			Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaîtront dans la fenêtre de résultats en raison de la présence de Toxine A sur CerTest C. difficile Toxin A Positive Control .
	VERT-ROUGE	-		
3.	POSITIF (Une cassette pour CerTest C. difficile Toxin B Positive Control)			Une ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) et une ligne ROUGE (ligne de test (T)) apparaîtront dans la fenêtre de résultats en raison de la présence de Toxine B sur CerTest C. difficile Toxin B Positive Control .
	-	VERT-ROUGE		
4.	NON VALIDE			Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non, ou si seule la ligne de contrôle (C) (VERT) apparaît. Les causes les plus courantes de l'échec de la ligne de contrôle sont une mauvaise façon de procéder ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le test répété avec un nouveau test et un nouveau CerTest C. difficile Toxin A Positive Control et CerTest C. difficile Toxin B Positive Control . Si la situation se répète, vous devez arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local. Tout résultat lu après plus de 10 minutes sera considéré comme invalide.
	Tout autre résultat			

Table A 3.3 Interprétation des résultats de CerTest C. difficile Toxin A et Toxin B Positive Control.

B. Contrôle négatif externe. CerTest Negative Control

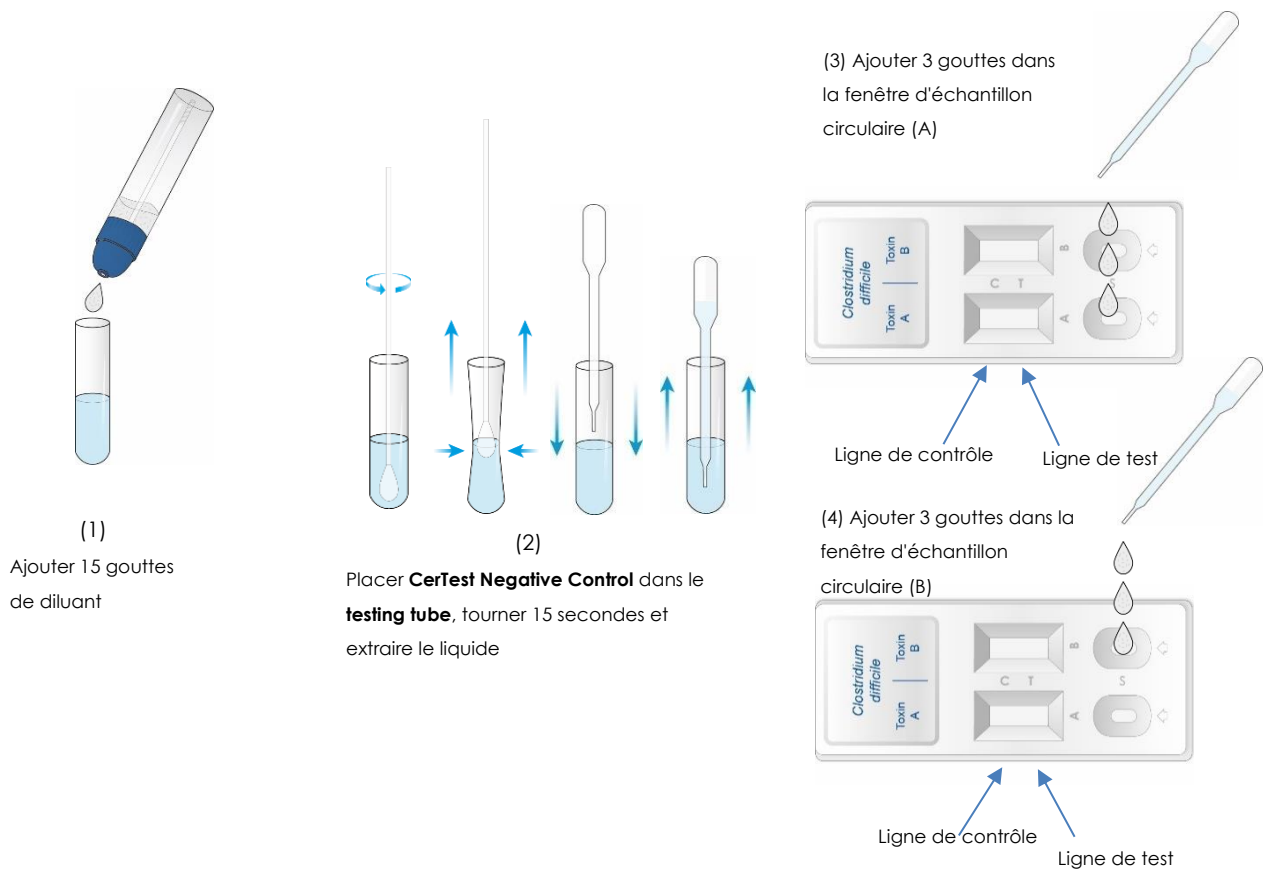
CerTest Negative Control est un contrôle de qualité externe pour le **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (Bandelette A et B). **CerTest Negative Control** doit être utilisé pour vérifier que les réactifs d'extraction et le test fonctionnent correctement.

Il doit être conservé entre 2-30 °C dans son emballage d'origine scellé, **CerTest Negative Control** est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur l'emballage. **CerTest Negative Control** ne doit être ouvert qu'au moment de son utilisation. Ne pas congeler.

B.1 Procédure d'utilisation du Contrôle négatif

Ramener les tests et le CerTest Negative Control à température ambiante (15-30°C) avant de procéder au test. Ne pas ouvrir l'emballage avant la réalisation du test.

1. Ajouter 15 gouttes (1) de diluant en provenance du **stool collection tube** dans le **testing tube** et immédiatement introduire **CerTest Negative Control**.
2. Mélanger la solution en faisant pivoter le **CerTest Negative Control** avec force contre la paroi du **testing tube** pendant au moins 15 secondes. Extraire autant de liquide que possible de **CerTest Negative Control** en pressant la paroi du **testing tube** pendant le retrait de **CerTest Negative Control** (2). Retirer le **CerTest Negative Control**.
3. Retirer **CerTest Clostridium difficile Toxin A+B** (combo card test) de son emballage de protection juste avant son utilisation.
4. Utiliser une **disposable pipette** et un test différent pour chaque contrôle. Ajouter 3 gouttes à partir du **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A (3), 3 gouttes à partir du **testing tube** dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B (4).
5. **Lire le résultat après 10 minutes.** Ne pas lire le résultat après 10 minutes. Tout résultat lu au-delà des 10 minutes sera considéré comme non valide.



Les contrôles négatifs peuvent être utilisés chaque fois qu'un nouveau kit est utilisé ou comme indiqué dans les procédures de contrôle de qualité établis par votre laboratoire.

B.1.1 Interprétation de la procédure de contrôle négatif.

Negative Control		Interprétation des résultats
1.	RÉSULTAT VALIDE	Une seule ligne VERTE (ligne de contrôle (C)) apparaît dans la fenêtre de résultats lors de la réalisation du test.
	VERT (seule la ligne de contrôle doit apparaître)	
2.	INVALIDE	Lorsque la ligne de contrôle (VERT) n'apparaît pas, que la ligne de test (ROUGE) apparaisse ou non, ou que les deux lignes (ligne de test ROUGE et ligne de contrôle VERTE) apparaissent. Les causes les plus courantes pour lesquelles un échec de ligne de contrôle sont une mauvaise façon de procéder ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, la procédure doit être revue et le test répété avec un nouveau test et un nouveau CerTest Negative Control . Si la situation persiste, arrêter d'utiliser le test et contacter votre distributeur local.
	Tout autre résultat	

Table A 3.4 Interprétation des résultats de CerTest Negative Control.

11. Reference/Bibliographie

1. Vaishnavi C. **Clinical spectrum & pathogenesis of Clostridium difficile associated diseases**. Indian J Med Res. 2010;131(4):487–99.
2. Fitzsimmons. **Independent evaluation of a GDH enzyme immunoassay for C. difficile screening**. Biomed Sci. 2011;(October):698–700.
3. Ofori E, Ramai D, Dhawan M, Mustafa F, Gasperino J, Reddy M. **Community-acquired Clostridium difficile: epidemiology, ribotype, risk factors, hospital and intensive care unit outcomes, and current and emerging therapies**. J Hosp Infect [Internet]. 2018;99(4):436–42.
4. Guh AY, Mu Y, Winston LG, Johnston H, Olson D, Farley MM, et al. **Trends in U.S. Burden of Clostridioides difficile Infection and Outcomes**. N Engl J Med. 2021;382(14):1320–30.
5. Wren MWD, Sivapalan M, Kinson R, Shetty NP. **An evaluation of tests for faecal toxin , glutamate dehydrogenase , lactoferrin and toxigenic culture in the diagnostic laboratory**. Br J Biomed Sci. 2009;66(1):1–5.
6. Services U. D of H and H. **Antibiotic resistance threats in the United States**. Centers Dis Control Prev. 2019;1–113.

12. Symbols for IVD components and reagents/ Symboles pour réactifs et produits de diagnostic *in vitro*

	In vitro diagnostic device / Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>		Contains <n> test/ Contient <n> test		Catalogue number/ Numéro de référence		Keep dry/ Stocker dans un endroit sec
	Consult instructions for use/ Consulter les instructions d'utilisation		Batch code/ Numéro de lot		Use by (yyyy-mm: year and month)/ Date de péremption (yyyy-mm : année et mois)		Temperature limitation/ Limitation de température
	Only one use/ Ne pas réutiliser		Manufacture/ Fabricant	DIL	Sample diluent/ Diluant d'échantillon		CE marking/ Marquage CE
	Positive Control/ Contrôle positif		Negative Control/ Contrôle négatif				

Change Control/ Contrôle des changements		
Version/Version	Changes/Changements	Date/Jour
00	Updated new IFU format and IFU codification / Adaptation du nouveau format d'instruction d'utilisation et de codage.	03/04/2023

Table A 4. Change control table/ Tableau de contrôle des changements



CerTest Rapid Test

CerTest
BIOTEC



CerTest Rapid Test

CerTest
BIOTEC



CerTest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

Tel. (+34) 976 520 354

Fax (+34) 976 106 268

certest@certest.es | rapidtest@certest.es

www.certest.es

One step ahead

F-616 rev.00