

FRANCAIS

Test immunochromatographique destiné à la détection des anticorps spécifiques du tétanos dans le sérum, le plasma ou le sang humain afin d'évaluer le statut immunitaire du patient

TE-20B / S-GZ-20 (20 tests)

TE-40B / S-GZ-40 (40 tests)

Diagnostic In Vitro (usage professionnel uniquement)

1. INTRODUCTION

a) Contexte clinique

Le tétanos est encore actuellement un problème mondial : chaque année, dans le monde, plusieurs centaines de milliers de gens en sont encore affectés.

La toxine tétanique, toxine microbienne potentielle, produite par *Clostridium tetani*, a un poids moléculaire de 150.000 et consiste en une chaîne lourde contenant le site de liaison aux cellules nerveuses et une chaîne légère contenant probablement la partie toxique de la molécule. On suppose que la toxine tétanique exerce son action pathogène au niveau du système nerveux central en inhibant le relargage du neurotransmetteur.

On a prouvé que l'immunisation en masse avec l'anatoxine tétanique (toxine inactivée par la formaline) était tout à fait efficace dans la protection des populations contre le tétanos.

La connaissance du statut immunitaire d'une population a des applications pratiques telles que le contrôle de l'efficacité des programmes d'immunisation adoptés et la persistance de l'immunité. Cela peut aussi aider les cliniciens des services d'urgence à choisir la prophylaxie antitétanique correcte vis-à-vis des patients à risque pour le tétanos.

Il est généralement admis dans la littérature qu'un sujet est : peu ou pas protégé : lorsque le titre des anticorps :

- antitétaniques dans le sérum est $< 0,1$ UI/ml,
- bien protégé : lorsque le titre est $\geq 0,1$ UI/ml.

b) Intérêt du test

Les patients consultant en urgence pour un traumatisme associé à une effraction cutanéomuqueuse présentent un risque au niveau d'une contamination possible par le tétanos, et pourtant, ils se trompent parfois à propos de leur situation vaccinale.

C'est pourquoi le personnel médical peut être amené à ne rien proposer à un patient se disant vacciné mais finalement non protégé ou, inversement, à vacciner un patient protégé se croyant non protégé.

Dans le premier cas, on risque la déclaration d'un tétanos, et dans le deuxième cas, une hyperimmunisation.

La connaissance du statut immunitaire d'un patient à risque pour le tétanos permettrait au clinicien du service d'urgence de choisir la prophylaxie antitétanique correcte et adaptée. Un moyen efficace de connaître le statut immunitaire est de déterminer le taux d'anticorps antitétaniques et idéalement, dans le cadre des urgences, le résultat doit être obtenu rapidement.

Le TETANOS QUICK STICK apporte une solution dans ce sens puisqu'il permet d'apprécier l'immunité d'un patient en 10 minutes. Ce test détecte les taux d'anticorps $\geq 0,1$ UI/ml dans le sérum, seuil au-delà duquel on peut garantir qu'une personne présente une bonne protection.

Suivant que le test est positif ou négatif, le clinicien peut donc choisir la prophylaxie adéquate.

2. PRINCIPE DU TEST

Le TETANOS QUICK STICK est un test immunologique rapide, basé sur le principe de l'immunochromatographie.

Cette méthode utilise un mélange de conjugués à l'or dont l'anatoxine tétanique et de l'anatoxine tétanique fixée à la phase solide.

L'échantillon de sang, de sérum ou de plasma est déposé dans le puits du TETANOS QUICK STICK. On ajoute ensuite le diluant dans le même puits.

Le diluant migre sur le stick, entraînant le conjugué à l'or qui forme un complexe avec les immunoglobulines anti-tétaniques présentes dans l'échantillon.

Ces complexes réagissent avec l'anatoxine immobilisée, ce qui entraîne l'apparition d'une ligne colorée dans la fenêtre "T".

S'il n'y a pas d'immunoglobulines antitétaniques dans l'échantillon, aucune ligne colorée n'apparaît dans la fenêtre "T".

L'excès des conjugués à l'or est capté par un réactif contrôle fixé au niveau de la fenêtre "C", pour former une ligne rose, témoin du bon fonctionnement du test.

3. CONTENU DE LA TROUSSE

TE-20B / S-GZ-20 (20 tests):

Chaque trousse contient le matériel nécessaire pour 20 tests.

- 20 boîtiers emballés individuellement dans un sachet en aluminium (à usage unique) avec 20 pipettes en plastique jetables.
Le stick est inclus dans un boîtier à 2 fenêtres contenant :
 - 1 puits : zone de dépôt de l'échantillon et du diluant
 - T : zone où apparaît le résultat du Test
 - C : zone Contrôle
- 1 flacons de 5 ml de diluant contenant du PBS pH7,2; 0,1% de détergent et 0,05% d'azide de sodium.
- Notice explicative.

TE-40B / S-GZ-40 (40 tests):

Chaque trousse contient le matériel nécessaire pour 40 tests.

- 40 boîtiers emballés individuellement dans un sachet en aluminium (à usage unique) avec 40 pipettes en plastique jetables.
Le stick est inclus dans un boîtier à 2 fenêtres contenant :
 - 1 puits : zone de dépôt de l'échantillon et du diluant
 - T : zone où apparaît le résultat du Test
 - C : zone Contrôle
- 2 flacons de 5 ml de diluant contenant du PBS pH7,2; 0,1% de détergent et 0,05% d'azide de sodium.
- Notice explicative.
- 40 lancettes
- 80 étiquettes patients

4. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Pour usage in vitro.
2. Ne pas utiliser le test si la pochette en aluminium est endommagée.
3. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Lorsque le test est terminé, se débarrasser prudemment des échantillons, après soit les avoir autoclavés pendant une heure au moins, soit les avoir traités pendant une heure avec une solution 0,5 à 1% d'hypochlorite de sodium.
4. Porter une blouse et des gants jetables lors de la manipulation des échantillons.
5. Ne pas manger, boire, ni fumer dans la pièce où les échantillons et les réactifs du coffret sont manipulés.
6. Eviter le contact des mains avec les yeux ou le nez pendant la manipulation des échantillons.
7. Le diluant contient 0,05% de Sodium Azide comme agent antimicrobien. La pénétration dans l'organisme est possible par toutes les voies. L'absorption est rapide et complète par voie digestive, elle est également importante par inhalation et par voie percutanée.

5. CONSERVATION ET STABILITE

La trousse TETANOS QUICK STICK doit être stockée entre 4 et 30°C. Utiliser la trousse jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret. Ne pas congeler la trousse.

6. ECHANTILLONS

1. Le test TETANOS QUICK STICK peut être effectué sur sang non hémolysé, sérum, plasma (citrate ou EDTA) ou plasma recalcifié.
2. Les échantillons sont, idéalement, testés immédiatement. Sinon, ils peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant 3 jours maximum.

Si le test ne peut pas être réalisé dans les 3 jours, les échantillons sériques et plasmatiques doivent être congelés (-20°C). Si les échantillons doivent être envoyés, ils seront emballés selon le règlement de transport des produits biologiques.

3. Les échantillons contenant un précipité peuvent donner des résultats aberrants. De tels échantillons devront être clarifiés par centrifugation (5 min. à 1000g) avant le test.

7. MODE D'EMPLOI

1. Enlever le nombre désiré de boîtiers TETANOS QUICK STICK de leur sachet (en le déchirant à partir de l'encoche) et déposer ces boîtiers sur une surface horizontale.
2. Identifier le test et le patient associé sur le boîtier.
3. Le test peut être effectué sur sang total, sérum ou plasma.

* Sur sang total

Nettoyer le doigt du patient : eau savonneuse ou désinfectant. Après piqûre avec une lancette à usage unique, prélever le volume adéquat de sang (voir schéma) à l'aide de la pipette en plastique et le déposer dans le puits de dépôt.

* Sur sérum ou plasma

Prélever le volume adéquat d'échantillon à l'aide de la pipette (20 µL) et déposer dans le puits de dépôt.

4. Ajouter immédiatement (moins de 10 secondes après l'échantillon) 3 gouttes de diluant en tenant le flacon verticalement au-dessus du puits de dépôt, en évitant toutefois que l'extrémité du compte-gouttes ne rentre en contact direct avec le fond du puits.
5. Après 10 minutes, lire les résultats.

NB : si aucun flux de liquide n'apparaît dans la fenêtre de lecture après 2 minutes, on peut ajouter une goutte de diluant supplémentaire.

8. LECTURE ET INTERPRETATION

1 Validation du test

Une ligne colorée rose apparaît dans la zone C indiquant que le test a été effectué correctement. L'absence de ligne colorée dans la zone C ne valide pas le test qui doit être refait.

2 Lecture du test

- Aucune ligne colorée n'apparaît dans la zone T: le test est négatif.
- Présence d'une ligne colorée rose dans la zone T, quelle qu'en soit l'intensité: le test est positif.
- Toute réaction positive indique que le taux d'anticorps du patient est supérieur au seuil de calibration du test : 0,1UI/ml. A partir de ce seuil de 0,1UI/ml le taux d'anticorps est considéré comme protecteur au regard du tétanos.
En cas d'hésitation sur la présence ou non d'une bande colorée sur la zone T (par exemple, lorsqu'un patient a un taux d'anticorps proche du seuil de calibration du test) : le test est rendu négatif.
- Remarques: En aucun cas il ne doit y avoir de comparaison de l'intensité de la coloration des lignes T et C.

3 Lecture automatique

Le test peut être lu au moyen d'un lecteur automatique (TQS reader) qui répond positif ou négatif en fonction du taux d'anticorps présent dans le sang du patient. Le résultat est imprimé sur un ticket. Au cas où le lecteur doit être utilisé, consulter le mode d'emploi (Code TQR-01 / H-GY-000)

REMARQUE: ARCHIVAGE DES RESULTATS

80 étiquettes sont fournies dans la trousse pour la traçabilité du résultat (2 étiquettes par test). Sur l'étiquette, noter le nom du patient, la date, le résultat positif ou négatif obtenu par une croix dans la case correspondante. Noter également le nom de la personne qui a effectué le test.

Coller l'étiquette à l'emplacement désigné par votre procédure concernant l'archivage. Une seconde étiquette est disponible selon vos besoins.

9. CONTROLE DE QUALITE

L'utilisation de réactifs de contrôle est recommandée pour s'assurer du bon fonctionnement de la trousse. Le Set de contrôle (ref. TE2C / S-GZ-C2) constitué d'un sérum positif et d'un sérum négatif peut être utilisé dans ce cadre. Un sérum antitétanique positif, calibré, peut être utilisé pour le contrôle de qualité.

Protocole : ajouter une goutte de contrôle (flacon tenu verticalement) et 3 gouttes de diluant. Ensuite, suivre le reste de la procédure décrite pour le test.

10. VALEURS ATTENDUES

Le TETANOS QUICK STICK détecte des taux d'anticorps anti-tétaniques

≥ 0,1 UI/ml dans le sérum ou le plasma humain

≥ 0,2 UI/ml dans le sang total.

Ces taux d'anticorps sont visibles 10 minutes après l'addition du diluant.

11. PERFORMANCES DU TEST

A. Reproductibilité

1. Intra-test

La précision intra-test a été déterminée en testant 10 fois consécutives 3 échantillons contenant respectivement 0; 0,5 et 20 UI/ml. Les valeurs négatives et positives étaient correctes dans tous les tests.

2. Inter-test

La précision inter-test a été déterminée en testant 10 fois 3 échantillons de 0; 0,5 et 20 UI/ml dans 3 lots de boîtiers TETANOS QUICK STICK. De nouveau, les valeurs négatives et positives étaient correctes dans tous les tests.

B. Validation clinique

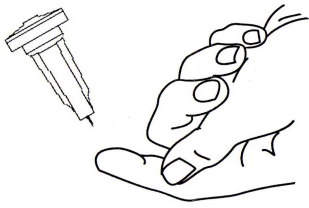
200 échantillons de sérum ont été testés par Gamma en utilisant un kit Tetanos ELISA Gamma et le Tetanos Quick Stick.

Nombre d'échantillons	34	9	157
Titre (ELISA) IU/ml	<0,1	0,1 ≥ titre ≥ 0,14	>0,14

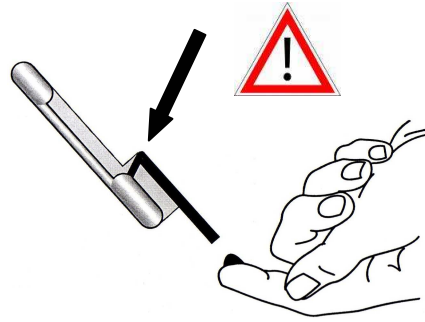
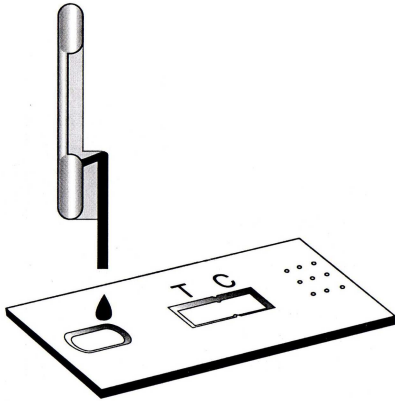
Les 34 échantillons < 0,1 IU/ml sont négatifs en TQS.

Les 157 échantillons > 0,14 sont positifs en TQS.

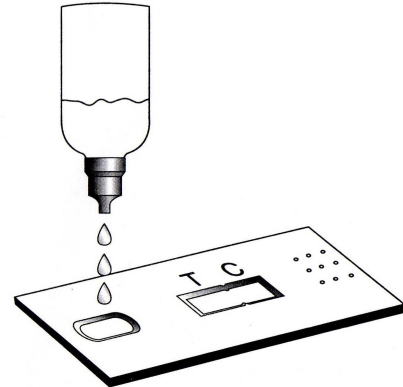
Pour les 9 échantillons entre 0,1 et 0,14 IU/ml, après un second test de confirmation, six échantillons sont discordants : 0,10; 0,11 et 0,12 IU/ml en ELISA alors qu'ils étaient négatifs en TQS.



①



②

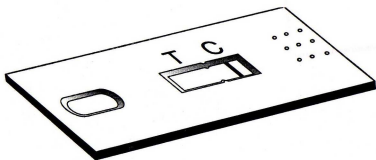


(en) Correct Filling
(fr) Remplissage Correct
(it) Livello di riempimento adeguato

(en) 1. Dispense 1 drop of sample in sample well
 2. Within 10 seconds, dispense 3 drops of diluent in sample well
 Read results after 10 minutes

(fr) 1. A l'aide de la pipette, déposer **la totalité du sang** dans la fenêtre de dépôt
 2. Ajouter rapidement (dans les 10 secondes) 3 gouttes de diluant dans la fenêtre de dépôt
 Lire les résultats après 10 minutes

(it) 1. Dispensare una goccia del campione nel pozzetto di reazione.
 2. Tra i 10 secondi, dispensare 3 gocce di diluente nel medesimo pozzetto
 Leggere il risultato dopo 10 minuti



Negative

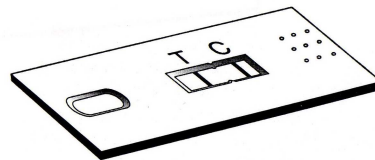
One coloured band appears in control windows (C)

Négatif

Une ligne colorée apparaît dans la zone contrôle (C)

Negativo

1 banda colorata compare solamente nelle zona di controllo (C)



Positive

Two coloured band appear in test (T) and colored (C) windows

Positif

2 lignes colorées apparaissent dans la zone test (T) et la zone contrôle (C)

Positivo

2 bande colorate compaiono rispettivamente nella zona del test (T) e nella zona di controllo (C)