

Test Rapide pour la détermination du statut immunitaire vis à-vis du tétanos
Réf. TR-TET-001
INDICATION D'UTILISATION

TetaQuick® est un test immunochromatographique en phase solide pour la détection rapide et qualitative des anticorps dirigés contre le *Clostridium tetani* dans le sang total, le sérum ou le plasma humain. Ce test permet la détermination du statut immunitaire vis à-vis du tétanos.

INTRODUCTION

Le tétanos est une maladie infectieuse aiguë, grave pouvant entraîner la mort. Elle est due à une toxine produite par *Clostridium tetani*.

Lorsqu'une plaie est contaminée par de la terre, des spores de *Clostridium tetani* peuvent se développer et libérer une toxine pouvant entraîner des spasmes et des raideurs musculaires généralisés.

La prévention du tétanos repose sur une vaccination par une anatoxine qui confère une immunité importante et durable puisque 91% des sujets sont encore immunisés 10 ans après la vaccination. Cependant dans les pays industrialisés, bien que rare, le tétanos n'a pas disparu et cela malgré un système de vaccination performant.

Dans un contexte d'urgence de consultation pour blessure, la prise en charge est basée sur le lavage et la désinfection des plaies et une immunisation par injection d'anatoxine tétanique et/ou d'immunoglobulines antitoxine tétanique. Lors de la consultation, le statut vaccinal du patient vis-à-vis du tétanos est au mieux apprécié par l'examen du carnet de vaccination ou à défaut, et le plus souvent en pratique, par un interrogatoire du patient. Cependant, les données françaises montrent que le carnet vaccinal serait non disponible dans 90-95% des cas et diverses études ont démontré que les patients méconnaissent ou ignorent leur statut vaccinal réel¹.

La difficulté d'accès à ces données conduit une majorité de service d'accueil des urgences à recourir à l'utilisation de tests immunochromatographiques rapides pour définir le statut vaccinal du patient vis-à-vis du tétanos et mettre en œuvre la prophylaxie adéquate^{2,3,4}.

PRINCIPE DU TEST

TetaQuick® est un test immunochromatographique à flux latéral. Le test utilise des anticorps anti IgG humaines (ligne test) immobilisés sur une bandelette de nitrocellulose. Le conjugué (antigènes de toxine tétanique marqué à l'or colloïdal) est également intégré à la bandelette.

Lorsque l'échantillon sanguin est ajouté dans le puits échantillon (S) puis le tampon dans le puits tampon (B), les anticorps IgG, s'ils sont présents, se lient aux conjugués toxine anti-tétanique, formant des complexes antigènes-anticorps.

Ces complexes migrent à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité. Lorsque les complexes rencontrent la ligne de l'anticorps immobilisé correspondant, les complexes sont piégés et forment une bande de couleur bordeaux qui confirme la réactivité du test. L'absence de bande colorée dans la région test indique un résultat négatif.

MATERIEL FOURNI

- 10 sachets scellés contenant chacun une cassette test, une pipette de 50µl et un absorbeur d'humidité
- 10 flacons de tampon
- 10 lancettes de sécurité
- 10 tampons d'alcool
- 1 notice d'utilisation

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Récipients de collecte des échantillons (pour l'obtention de sang veineux uniquement)
- Centrifugeuse (pour l'obtention de plasma uniquement)
- Pipettes de laboratoire (si utilisation de sang veineux ou plasma/sérum uniquement)
- Minuteur

CONSERVATION ET STABILITE

Le kit peut être conservé à température ambiante ou réfrigérée (2-30°C). Ne pas congeler le kit. Le kit est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur le kit. **NE RETIRER LA CASSETTE DU SACHET SCÉLÉ QUE JUSTE AVANT D'EFFECTUER LE DEPOT DE L'ECHANTILLON.**

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

- Pour usage professionnel de diagnostic *in vitro* uniquement réservé aux professionnels. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'emballage.
- Lire attentivement toute la procédure avant de réaliser le test. Le non-respect de la procédure peut entraîner des résultats incorrects.
- Ne pas utiliser si le sachet scellé est endommagé ou si le tube de tampon est cassé.
- La cassette test est à usage unique. Ne réutiliser en aucun cas.
- Manipuler tous les échantillons comme s'ils contenaient des agents infectieux. Respecter les consignes de sécurité en matière de risques microbiologiques et suivre les procédures en vigueur pour l'élimination appropriée des échantillons.
- Porter des vêtements de protection tels que des blouses de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection pendant les procédures.
- L'humidité et la température peuvent affecter les résultats.
- Le matériel utilisé doit être jeté conformément à la réglementation locale.

PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION DES ECHANTILLONS

TetaQuick® peut être réalisé à partir de sang de sérum ou de plasma.

Pour les échantillons de sang total prélevés au bout du doigt (utilisation de la pipette de 50µL) :

- Recueillir le sang comme décrit dans la section « Procédure » ci-dessous.

Pour prélever des échantillons de sang total par ponction veineuse :

- Prélever un échantillon de sang traité par anticoagulant (héparine de sodium ou de lithium, EDTA de potassium ou de sodium, oxalate de sodium, citrate de sodium) en suivant les procédures de laboratoire standard.

Pour prélever des échantillons de sérum ou plasma :

- Recueillir le sang total par ponction veineuse.
- Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. N'utiliser que des échantillons clairs et non hémolysés.

Effectuer le test immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Ne pas laisser les échantillons à température ambiante pendant de longues périodes. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C pendant 3 jours maximum. Pour une conservation au long terme, les échantillons doivent être conservés à une température inférieure à -20°C. Le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé à 2-8°C si le test doit être effectué dans les 2 jours suivant le prélèvement. Ne pas congeler les échantillons de sang total. Le sang total prélevé au bout du doigt doit être testé immédiatement.

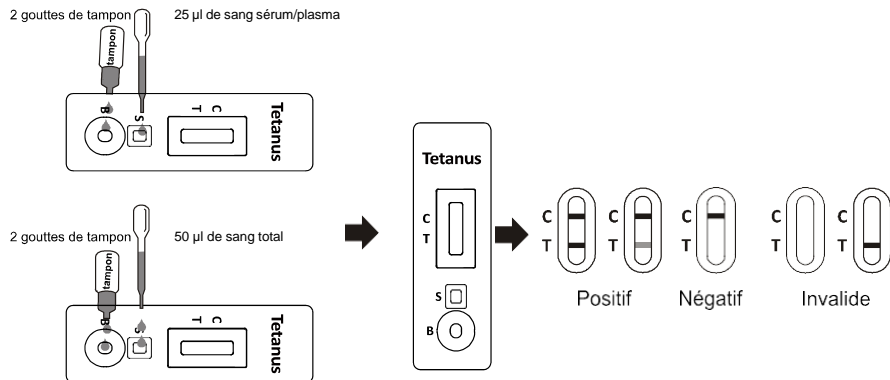
Laisser les échantillons atteindre la température de la pièce avant de les tester. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant de réaliser le test. Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés à plusieurs reprises.

Si des échantillons doivent être expédiés, ils doivent être emballés conformément aux réglementations locales concernant le transport des agents infectieux.

PROCÉDURE

S'assurer que l'échantillon et les composants du test soient à température ambiante (15-30°C) avant de procéder au test. Retirer la cassette de la pochette scellée et juste avant d'effectuer le test.

1. Placer la cassette sur une surface plane et propre.
2. Réaliser le test comme suit, en fonction du type d'échantillon :
 - Pour les échantillons de sang total prélevés au bout du doigt (utilisation de la pipette de 50µL)
 - o Désinfecter le bout du doigt avec le tampon d'alcool
 - o A l'aide de la lancette, piquer sur le côté du bout du doigt. Former une grosse goutte de sang suspendue.
 - o Tenir la pipette à l'horizontale et mettre l'extrémité de celle-ci en contact avec le sang. La pipette se remplit automatiquement. La remplir jusqu'au trait noir.
 - o Tenir la pipette verticalement au-dessus de la cassette et transférer la totalité (environ 50 µL) dans le puits échantillon (S) puis ajouter 2 gouttes de tampon (environ 80 µL) dans le puits tampon (B) et démarrer le minuteur.
 - Pour les échantillons de sang total veineux : prélever 50µl d'échantillon de sang à l'aide d'une pipette de laboratoire puis les déposer dans le puits échantillon (S) de la cassette. Ajouter immédiatement 2 gouttes de tampon (environ 80µl) dans le puits tampon (B) de la cassette et démarrer le minuteur.
 - Pour les échantillons de sérum ou de plasma : prélever 25µl d'échantillon de sérum/plasma à l'aide d'une pipette de laboratoire puis les déposer dans le puits échantillon (S) de la cassette. Ajouter immédiatement 2 gouttes de tampon (environ 80µl) dans le puits tampon (B) de la cassette et démarrer le minuteur.
3. Attendre que la ou les bande(s) coloré(es) apparaisse(nt).
Lire les résultats à 15 minutes. Ne pas interpréter le résultat après 20 minutes.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Positif : la ligne contrôle (C) et la ligne de test (T) apparaissent dans la fenêtre de résultat. Cela indique un résultat positif.

Négatif : seule la ligne de contrôle (C) apparaît dans la fenêtre de résultat. Cela indique un résultat négatif.

Invalide : la ligne contrôle (C) n'apparaît pas dans la fenêtre de résultat. Un volume d'échantillon insuffisant ou une exécution incorrecte de la procédure sont les raisons les plus probables de l'échec de la ligne contrôle. Revoir la procédure et répéter le test avec une nouvelle cassette test. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit et contacter votre distributeur local.

Remarque: l'intensité de la couleur dans la zone de test (T) peut varier en fonction de la concentration des anticorps antitétanique présents dans l'échantillon. Par conséquent, toute nuance de couleur dans la zone de test doit être considérée comme positive.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Contrôle qualité interne

Un contrôle qualité interne est inclus dans le test. L'apparition d'une ligne rouge contrôle (C) confirme que la procédure de test a été correctement suivie.

LIMITES

- TetaQuick® est destinée à un usage de diagnostic *in vitro*. Le test doit être utilisé pour la détection des anticorps antitétanos dans les échantillons de sang total, de sérum ou de plasma uniquement. Ni la valeur quantitative ni le taux d'augmentation de la concentration d'anticorps anti-tétanos ne peuvent être déterminés par ce test qualitatif.
- Le non-respect de la procédure de test peut nuire à la performance du test et/ou invalider le résultat du test.
- Un résultat négatif peut survenir si les anticorps détectés ne sont pas présents au stade de la maladie pendant lequel l'échantillon est prélevé ou si leur taux est inférieur à la limite de détection du test.
- L'hématocrite du sang total doit être compris entre 25% et 65%.

PERFORMANCES

Le test TetaQuick® a été évalué par rapport à un autre test rapide. Au total, 70 échantillons positifs et 85 échantillons négatifs ont été collectés. Les résultats de sensibilité et de spécificité obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Technique		Test de référence		Total
		Positif	Négatif	
TetaQuick®	Résultats			
	Positif	69	1	70
	Négatif	1	84	85
Total		70	85	155

Sensibilité relative: 98,6% (95%CI*: 92,3%-99,9%)

Spécificité relative: 98,8% (95%CI*: 93,6%-99,9%)

Précision: 98,7% (95%CI*: 95,4%-99,8%)

* Intervalles de confiance

Limite de détection (seuil de positivité ou cut off)

Selon les recommandations de l'OMS, la concentration minimale de détection des anticorps dirigés contre le tétanos a été fixée à 0,1 UI/mL⁵.

Précision

Intra-lot : 4 échantillons (un négatif, un faible positif, un positif moyen et un positif fort) ont été testés 10 fois chacun. Les échantillons ont été correctement identifiés dans plus de 99% du temps.

Inter-lot : 4 échantillons (un négatif, un faible positif, un positif moyen et un positif fort) ont été testés 10 fois sur 3 lots. Les échantillons ont été correctement identifiés dans plus de 99% du temps.

Effet prozone ou crochet

Aucun effet de prozone n'a été détecté à une concentration allant jusqu'à 45 UI/mL.

Réactions croisées

Les substances listées ci-dessous ont été testées.

Les résultats n'ont montré aucune réaction croisée.

VIH	Virus de la rubéole	IgG du virus de l'hépatite A
Virus de l'hépatite B	IgG de la coqueluche	IgG du virus varicelle-zona
IgG du tréponème pâle	IgG du virus d'Epstein-Barr	IgG de la pneumonie à mycoplasme
IgG du cytomegalovirus	IgG du virus de l'herpès simplex	IgG de <i>Toxoplasma gondii</i>
IgG de l'anatoxine diphtérique	Facteur rhumatoïde	

Interférences

Les résultats n'ont montré aucune interférence.

Le kit a été testé pour détecter toute interférence éventuelle avec des échantillons visiblement hémolysés et lipémiques, ainsi que des échantillons de sérum contenant des taux élevés de bilirubine. Les résultats n'ont montré aucune interférence. De plus, aucune interférence n'a été observée dans les spécimens contenant jusqu'à 1 000 mg/dL d'hémoglobine, jusqu'à 1 000 mg/dL de bilirubine, et jusqu'à 2 000 mg/dL d'albumine sérique humaine.

RÉFÉRENCES DE LITTÉRATURE

- Elkharrat D. et al, Impact of guidelines to alter antitetanus prophylaxis practices and reduce costs in the emergency department. *Am J Ther.* 1999; 6, (4): 203-9.
- Thiebaut A. et al. Intérêt clinique et économique d'un test rapide de mirose en évidence de l'immunoprotection antitétanique. *J. Pharm. Clin.* 2003; 22, (1): 31-35.
- Colombet I. et al. Diagnosis of Tetanus Immunization status: Multicenter Assessment of a Rapid Biological Test. *Clin. & Diagn. Lab. Immunol.* 2005; 12, (9): 1057-1062.
- Stubbe M. et al. Improving tetanus prophylaxis in the emergency department: a prospective, double-blind cost-effectiveness study. *Belgian Society of Emergency and Disaster Medicine. Emerg Med J.* 2007; 24, (9): 648-53.
- Borrow R. et al., WHO, The immunological basis for immunization series. Module 3 Tetanus updated. 2006.

LÉGENDE DES SYMBOLES

	Lire la notice d'utilisation		Nombre de tests par kit		Fabricant
	Pour usage de diagnostic <i>in vitro</i> uniquement		Date de péremption		Ne pas réutiliser
	A conserver entre 2 et 30°C		Numéro de lot		Référence
	Marquage CE				

AAZ-LMB
43, rue de Bellevue
92100 – Boulogne-Billancourt France