

VITASSAY

E. coli

Test rapide pour la détection qualitative de E.coli O157:H7 dans les selles humaines.

IUFR-7355026-67 Ed00 Octobre 2018



Usage Diagnostic In Vitro uniquement

UTILISATION

Vitassay E. coli est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative de *Escherichia coli* O157:H7 (*E.coli* O157:H7) dans les selles humaines.

C'est un test de dépistage simple, non invasif, et très sensible pour le diagnostic des infections à *Escherichia coli* O157:H7.

INTRODUCTION

Les infections à *E. Coli* O157:H7 varient en degré de gravité du porteur asymptomatique à la diarrhée sanglante et les crampes abdominales graves, syndrome urémique hémolytique (SUH) et la mort. Les réservoirs principaux d'*E. coli* O157:H7 sont les ruminants (par exemple. Bétail, mouton, chèvres et cerf). Les infections sont acquises par la consommation d'eau contaminée fécale ou la nourriture (particulièrement la viande ou des produits alimentaires), de personne à personne ainsi que lors de contact avec l'animal colonisé ou son environnement.

L'infection humaine arrive 3-4 jours après que les bactéries soient ingérées; les symptômes incluent diarrhée, vomissements, crampes d'estomac et une faible fièvre pendant 5-7 jours.

PRINCIPE

Vitassay E.coli est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection de *Escherichia coli* O157:H7 dans les échantillons de selles humaines.

La zone réactive (ligne test) de la membrane de nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre *Escherichia coli* O157:H7.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre *Escherichia coli* O157:H7 formant des conjugués. Le mélange se déplace latéralement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif, les anticorps présents sur la membrane (ligne test) capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge** sera visible. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à traverser les membranes et la ligne de contrôle **verte** apparaît toujours.

La présence de cette ligne **verte** (dans la zone de contrôle (C)) indique qu'un volume suffisant est ajouté; l'écoulement est obtenu et sert de témoin interne pour les réactifs.

PRECAUTIONS

- Usage professionnel in vitro uniquement.
- Ne pas utiliser après la date d'expiration.
- Ne pas utiliser le test si son sachet est endommagé.

- Les échantillons sont à considérer comme potentiellement dangereux et à gérer de la même manière qu'un agent infectieux. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contaminations.
- Dispositif à usage unique.
- Les tests doivent être jetés dans un récipient approprié pour réactifs dangereux après leur utilisation.
- Les réactifs contiennent des conservateurs. Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. Consulter la fiche de sécurité, disponible sur demande.
- Les composants fournis dans le kit sont homologués pour une utilisation avec **Vitassay E.coli**. Ne pas utiliser n'importe quel composant d'un autre kit commercial.
- Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire, porter des vêtements protecteurs, utiliser un masque, des lunettes et des gants jetables. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.

STOCKAGE ET STABILITE

Stocker dans le sachet scellé au réfrigérateur ou à température ambiante (Entre 2°C et 30°C).

Le test est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet scellé.

Le test doit rester dans son sachet scellé jusqu'à utilisation. Ne pas congeler.

MATERIELS

MATERIEL FOURNI	MATERIEL NECESSAIRE NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none">▪ 25 tests/kit Vitassay E.coli.▪ Notice d'utilisation.▪ 25 tubes avec diluent pour échantillon.▪ 1 écouvillon de contrôle positif Vitassay E. coli.▪ 1 écouvillon de contrôle négatif Vitassay.	<ul style="list-style-type: none">▪ Récipient pour échantillon.▪ Gants jetables▪ Minuteur

PRELEVEMENT DE L'ÉCHANTILLON

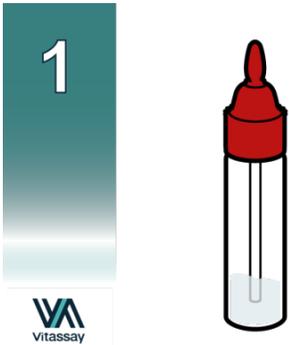
Quantité suffisante de matières fécales : 1 à 2g ou mL pour les échantillons liquides. Les échantillons de selles doivent être recueillis dans des récipients propres et secs.

Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (Entre 2°C et 8°C) pendant 1 à 2 jours avant le test. Pour une conservation plus longue, de 1 an maximum, l'échantillon doit être

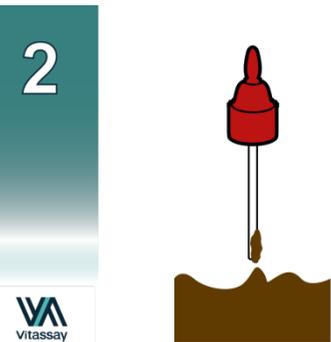
congelé à -20°C. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant le test.

PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON

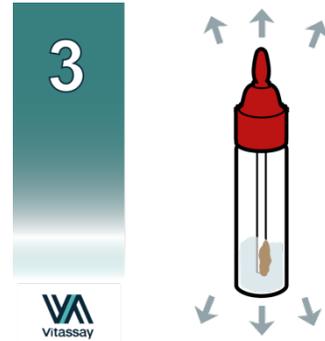
1. Enlever le bouchon du flacon contenant le diluant pour la dilution de l'échantillon (figure 1).
2. Utiliser la tige pour recueillir la quantité suffisante d'échantillon. Pour les selles solides, insérer la tige dans 4 zones différentes de l'échantillon de selles, prélever environ 125mg (figure 2), et l'ajouter dans le flacon avec le diluant de dilution de l'échantillon. Pour les selles liquides, déposer 125µL d'échantillon à la micropipette dans le flacon de dilution de l'échantillon.
3. Fermer le flacon avec le diluant et l'échantillon de selles. Agiter vigoureusement le flacon afin d'assurer une bonne homogénéité de l'échantillon (figure 3).



Flacon pour la dilution de l'échantillon



Insérer la tige dans 4 zones différentes de la selle



Déposer l'échantillon, refermer puis agiter.

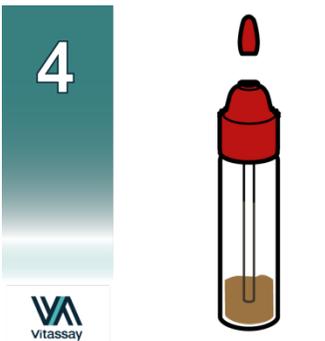
PROCEDURE

Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant revenir à température ambiante (entre 15°C et 30°C) avant d'effectuer le test.

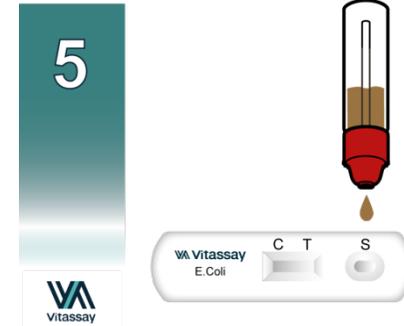
Ne pas ouvrir les sachets jusqu'à la réalisation du test.

1. Agiter le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay E.coli** de sa pochette protectrice juste avant son utilisation.
3. Prendre le flacon contenant l'échantillon dilué, couper l'extrémité du bouchon (figure 4) et déposer 4 gouttes dans la fenêtre repérée par la lettre S (figure 5).
4. Lire les résultats à **10 minutes**. Ne pas lire les résultats au delà de 10 minutes.

Si le test ne fonctionne pas en raison de particules solides, agiter à l'aide de la tige l'échantillon ajouté dans la fenêtre circulaire. Si ça ne fonctionne pas, déposer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide migre dans la zone réactionnelle.



Couper l'extrémité du bouchon



Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre S

INTERPRETATION DES RESULTATS

		NEGATIF	Absence d'E.coli O157:H7. Aucune infection causée par E.coli. O157:H7
		Une seule ligne verte dans la zone de contrôle (C).	
		POSITIF	Présence d'E.coli. Infection causée par E.coli. L'infection à E. coli présente un large éventail de manifestations cliniques, y compris le portage asymptomatique, la diarrhée non-sanglante, la colite hémorragique, le syndrome hémolytique-urémique (SHU) et le purpura thrombocytopénique thrombotique (PTT).
		En plus de la ligne verte (ligne de contrôle C), présence d'une ligne rouge (ligne de test T).	
AUTRES RESULTATS		Résultat non valide, il est recommandé de répéter le test à l'aide de l'échantillon avec un autre test. Remarque : Procédure technique incorrecte ou détérioration des réactifs sont habituellement les principales raisons de la défaillance de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persiste, cesser d'utiliser le kit et contacter le distributeur local.	

Remarque : L'intensité de la ligne de test de couleur rouge dans la zone de la ligne de résultat (T) varie en fonction de la concentration d'antigènes dans l'échantillon.

CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle interne est inclus dans le kit **Vitassay E.coli**. La ligne verte qui apparaît dans la fenêtre de résultats est un contrôle interne qui confirme le bon fonctionnement technique du test et que le volume d'échantillon déposé est suffisant.

LIMITES

- **Vitassay E. coli** doit être effectué dans les 2 heures après ouverture de la pochette scellée.
- Un excès d'échantillon de selles peut être à l'origine de résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluer l'échantillon avec le diluant et refaire le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration en antigènes.
- L'utilisation d'échantillons autres que des échantillons humains n'a pas été établie.
- La qualité du test **Vitassay E. coli** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles corrects doivent être obtenus.
- Des résultats positifs déterminent la présence d'*E.coli O157:H7* dans les selles. Un résultat positif devrait être complété par des techniques de laboratoire supplémentaires (méthodes biochimiques ou PCR) pour confirmer les résultats. La décision d'une infection confirmée doit être prise uniquement par un médecin après évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit reposer sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Un résultat négatif n'a pas de valeur négative définitive. Il est possible que la concentration d'antigènes soit inférieure à la valeur limite de détection. Si la situation ou les symptômes persistent, procéder à une détermination d'E. coli, sur un échantillon provenant d'une culture d'enrichissement.

VALEURS ATTENDUES

Escherichia coli O157:H7 et autres souches d'entérobactéries productrices de Shiphatoxine (STEC) sont une cause importante de maladies gastro-intestinales bactériennes aux États-Unis. La maladie peut être grave, particulièrement chez les petits enfants ou les personnes âgées et le syndrome urémique hémolytique (SUH) arrive chez 4 % à 13 % des patients. L'infection E. coli O157 est la cause la plus commune de SUH chez les enfants. E.coli producteur de Shigatoxine (STEC) O157:H7 est l'agent causal pour plus de 96000 cas de diarrhées et 3200 hospitalisations annuellement aux États-Unis.

PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Vitassay E. coli a été évalué pour déterminer la sensibilité de culture d'enrichissement sélective d'échantillons, la spécificité avec les souches de producteurs de Shiga toxines, non producteurs de Shiga toxines et d'autre espèce d'Enterobacteriaceae dans le Laboratoire de Référence pour Escherichia coli (LREC), Université Santiago de Compostelle, Lugo (ESPAGNE).

14 souches de STEC (O157:H7 antigène), 4 souches Non STEC (O157), 9 souches de STEC (non O157), 4 autres espèces d'Enterobacteries.

		Culture			
		Positif STEC (O157 antigen)	Négatif Non STEC (O157)	Négatif Non O157	Total
Vitassay E. coli	Positif	14	4	2	20
	Négatif	0	0	11	11
	Total	14	4	13	31

Vitassay E. coli vs Culture			
Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
>99%	85%	70%	>99%

Les résultats ont montré que **Vitassay E. coli** a une sensibilité et une spécificité élevées pour détecter les E.coli O157:H7.

Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée n'a été détectée contre les agents pathogènes gastro-intestinaux qui sont occasionnellement présents dans les selles:

<i>Campylobacter coli</i>	<i>E. coli O171:H2</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>E. coli O174:H8</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citobacter freundii</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>E. coli O22:H8</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>E. coli O91:H-</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>E. coli O103:H2</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>E. coli O111:H21</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>E. coli O145:H-</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	

REFERENCES

1. MATTHEW R. LAIDLER; MATTHIEU TOURDJMAN; GENIEVE L. BUSER; TREVOR HOSTETLER; KIMBERLY K. REPP, RICHARD LEMAN, MANSOUR SAMADPOUR; WILLIAM E. KEENE. "Escherichia coli O157:H7 Infections Associated With Consumption of Locally Grown Strawberries Contaminated by Deer". Clinical Infectious Diseases. 2013;57, pp. 1129-1134.

2. RACHEL B. SALYTON; GEORGE TURABELIDZE, SARAH D. BENNETT; COLIN A. SCHWENSOHN; ANNA Q. YAFFEE; FAISAL KHAN; CINDY BUTLER; EIJA TREES; TRACY L. AYERS; MARJORIE L. DAVIS; ALISON S. LAUFER; STEPHEN GLADBACH; IAN WILLIAMS; LAURA B. GIERALTOWSKI. "Outbreak of Shiga Toxin-Producing

Escherichia coli (STEC) O157:H/ Associated with Romaine Lettuce Consumption, 2011". PLoS ONE 8(2): e55300.

3. KAREN P. NEIL; GWEN BIGGERSTAFF; J. KATHRYN MACDONALD; EIJA TREES, CARLOTA MEDUS; KIMBERLEE A. MUSSER; STEVEN G. STROIKA; DON ZINK; MARK J. SOTIR. "A Novel Vehicle for Transmission of Escherichia coli O157:H7 to Humans: Multistate Outbreak of E. coli O157:H7 Infections Associated With Consumption of Ready-to-Bake Commercial Prepacked Cookie Dough – United States, 2009". Clinical Infectious Diseases, 2012:54 (15 February), pp. 511-518.

SYMBOLES POUR COMPOSANTS ET RÉACTIFS DIV

IVD	Dispositif de diagnostic in vitro		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limites de température
	Expire le		Fabricant
LOT	N° de lot		Quantité suffisante pour <n> tests
DIL	Diluant d'échantillon	REF	Code produit



