

VITASSAY

EHEC VT1+VT2

Test rapide pour la détection qualitative simultanée des Verotoxines 1 et 2 (VT1 et VT2) produites par E. coli dans les selles humaines.

IUE-7455027-67 Ed00 Octobre 2017



Usage Diagnostic In Vitro uniquement.

UTILISATION

Vitassay EHEC VT1+VT2 est un immunodosage rapide pour la détection qualitative simultanée des vérotoxines 1 et 2 (VT1 et VT2) produites par E. coli dans les selles humaines.

C'est un test de dépistage simple, non et très sensible pour le diagnostic des infections à E. coli entérohémorragique (EHEC).

INTRODUCTION

Les maladies diarrhéiques sont une cause majeure de morbidité et de mortalité infantiles dans les pays en développement, environ 2 millions de décès par an. Parmi les agents étiologiques de la diarrhée dans ces pays, l'Escherichia coli diarrhéique (DEC) est un agent important, principalement chez les enfants de moins de 5 ans, et représente un problème majeur de santé publique dans ces zones. Six types différents de DEC ont été identifiés: E. coli entéroaggregative (EAEC), E. coli entérohémorragique (EPEC), E. coli entérotoxino-gène (ETEC) et E. coli adhérent de manière diffuse.

L'EHEC produit de la toxine de Shiga codée par stx1 (VT1) ou stx2 (VT2) et constitue le plus important groupe de pathogènes d'origine alimentaire récemment apparu. C'est une cause majeure de gastro-entérite qui peut être compliquée par la colite hémorragique ou le syndrome hémolytique et urémique, qui est la principale cause d'insuffisance rénale aiguë chez les enfants.

Ces toxines (VT1 et VT2) sont les principaux facteurs de virulence contribuant à la pathogénicité EHEC.

Quatre voies de transmission principales ont été identifiées par lesquelles l'EHEC peut être transmise à l'homme: transmission d'origine alimentaire; transmission par l'eau; transmission de personne à personne; et contact direct avec les animaux.

PRINCIPE

Vitassay EHEC VT1+VT2 est un test immunochromatographique qualitatif pour la détection des vérotoxines 1 et 2 (VT1 et VT2) produites par E. coli dans les selles humaines.

Bandelette A: La zone réactive (ligne test de la membrane de nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre VT1.

Strip B: La zone réactive (ligne test de la membrane de nitrocellulose est préalablement sensibilisée par des anticorps monoclonaux contre VT2.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre EHEC VT1 (bandelette A) et EHEC VT2 (bandelette B), formant des conjugués. Le mélange se déplace latéralement sur la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif à l'EHEC VT1, les anticorps présents sur la membrane (ligne test) capturent

le complexe conjugué et une ligne rouge sera visible dans la bandelette A, et si l'échantillon est positif à l'EHEC VT2, les anticorps présents sur la membrane (ligne test) capturent le complexe conjugué et une ligne rouge sera visible dans la bandelette B. Que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à traverser les membranes et la ligne de contrôle verte apparaît toujours (pour les deux bandes).

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 EHEC VT1+VT2**. 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 (2°C à 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 EHEC VT1+VT2• Notice d'utilisation.• 25 tubes avec diluent pour échantillon.	<ul style="list-style-type: none">• Récipient pour échantillon.• Gants jetables.• Minuteur.

1 écouvillon de contrôle positif, **Verotoxin 1**
1 écouvillon de contrôle positif, **Verotoxin 2**
1 écouvillon de contrôle négatif
Vitassay.

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 (2-8°C) pendant 24 heures avant le test. Pour une conservation plus longue, de 2 semaines maximum, l'échantillon doit être congelé à -20°C. Les échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant l'essai.

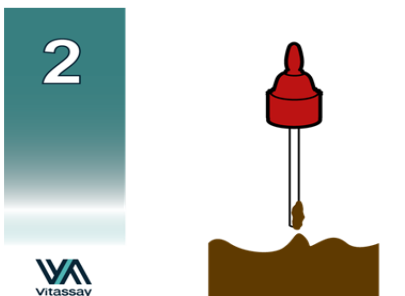
S'assurer que la quantité nécessaire est décongelée car les cycles de congélation et de décongélation ne sont pas recommandés. Homogénéiser les échantillons de selles aussi soigneusement que possible avant la préparation.

PREPARATION DE L'ÉCHANTILLON

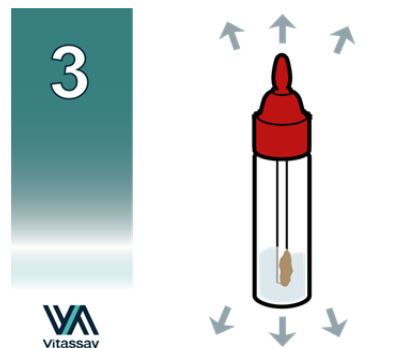
1. Enlever le bouchon du tube de collecte des selles (figure 1).
2. Utiliser la tige pour recueillir la quantité suffisante d'échantillon (environ 125mg). Pour les selles solides, insérer la tige dans 4 zones différentes de l'échantillon de selles (figure 2), et l'ajouter dans le flacon avec le diluant 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 l'échantillon de diluant et de selles. Agiter le flacon pour assurer une bonne homogénéité (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

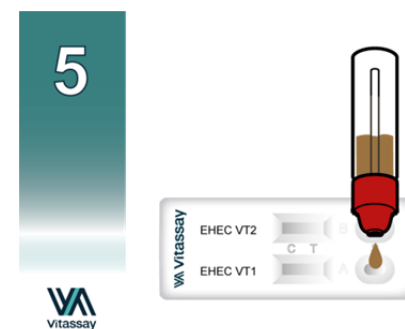
Laisser le test, l'échantillon de selles, les contrôles et le diluant revenir à température ambiante (15-30 °C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir les sachets jusqu'à la réalisation du test.

1. Agiter vigoureusement le flacon avec l'échantillon pour obtenir une dilution de l'échantillon correcte.
2. Retirer le **Vitassay EHEC VT1+VT2** 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 circulaire repérée par la lettre A - VT1 (figure 5) et 4 gouttes, en utilisant le flacon d'échantillon, dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre B -VT2 (figure 6).
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

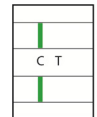



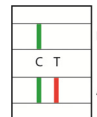
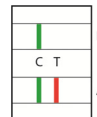


Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre A - VT1



Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire repérée par la lettre B - VT2

INTERPRETATION DES RESULTATS

RESULTATS	Bandelette A EHEC VT1	Bandelette B EHEC VT2	INTERPRETATION
	Négatif	Négatif	Il n'y a pas de présence de E. coli VT1 ou VT2. Aucune infection causée par EHEC.
	VERT	VERT	
	Positif	Positif	Il y a présence de VT1 et VT2 de E. coli. Infection causée par EHEC.
	VERT - ROUGE	VERT - ROUGE	
	Positif	Négatif	Il y a présence de VT1 de E. coli. L'infection est causée par EHEC.
	VERT - ROUGE	VERT	

	Négatif	Positif	Il y a présence de VT2 de E. coli. L'infection est causée par EHEC.
	VERT	VERT - ROUGE	
AUTRES RESULTATS			Résultat invalide, nous recommandons de répéter le test en utilisant l'échantillon avec un autre test. Remarque : Les techniques procédurales incorrectes ou la détérioration des réactifs sont les principales raisons de l'échec de la ligne de contrôle. Si les symptômes ou la situation persistent, cessez d'utiliser le kit et contactez votre 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.

CONTRÔLE DE QUALITE

Un contrôle interne est inclus dans le kit **Vitassay EHEC VT1+VT2**. 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

LIMITÉS

- **Vitassay EHEC VT1+VT2** 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.
- Seuls des échantillons de selles non conservés frais ou congelés peuvent être testés
- 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.
- Après une semaine d'infection, le nombre de bactéries dans les selles diminue, rendant l'échantillon moins réactif. Les échantillons de selles doivent être prélevés dans la semaine suivant la disparition des symptômes.
- La qualité du test **Vitassay EHEC VT1+VT2** dépend de la qualité de l'échantillon. Des échantillons de selles corrects doivent être obtenus.
- Des résultats positifs déterminent la présence de VT1 et/ou VT2 de E. coli dans les selles. Un résultat positif devrait être

complété par des techniques de laboratoire supplémentaires (méthodes biochimiques ou microscopie) 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'antigène soit inférieure à la valeur limite de détection. Si la situation ou les symptômes persistent, procéder à une détermination EHEC sur un échantillon provenant d'une culture d'enrichissement.
- La vérotoxine 1 (toxine de type Shiga 1) produite par EHEC est très similaire à celle produite par Shigella dysenteriae type 1 (toxine Shiga). La vérotoxine 1 diffère de la véritable toxine Shiga par une à sept différences d'acides aminés. Vitassay EHEC VT1 + VT2 peut donner un résultat positif avec la toxine Shiga produite par Shigella dysenteriae type 1. La détermination EHEC et Shigella dysenteriae type 1 doit être effectuée sur culture sélective et avec analyse biochimique.

VALEURS ATTENDUES

La signification épidémiologique des types diarrhéiques d'Escherichia coli dans la diarrhée infantile varie selon la zone géographique. Comme prévu, il est devenu clair qu'il existe des différences régionales importantes dans la prévalence et d'autres caractéristiques épidémiologiques de ces pathogènes

Au Japon, l'EHEC a causé 3000 à 4000 cas de maladie chaque année au cours de la dernière décennie.

PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée en utilisant Vitassay EHEC VT1 + VT2 et ces résultats ont été comparés à un test commercial (Shiga Toxin Quik Chek, TechLab®) pour Verotoxin 1 et 2.

Les résultats sont les suivants :

	Shiga Toxin Quik Chek, TecLab®		
	Positif	Négatif	Total
Vitassay EHEC VT1+VT2	Positif	0	4
	Négatif	0	30
	Total	4	30

Vitassay EHEC VT1+VT2 vs Shiga Toxin Quik Chek, TechLab®			
Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	>99%

Les résultats ont montré que **Vitassay EHEC VT1+VT2** a une sensibilité et spécificité très élevées pour détecter les EHEC.

Réactions croisées

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

<i>Campylobacter coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citobacter freundii</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	

REFERENCES

1. FAKHRI HAGHI; HABIB ZEIGHAMI; FAHIMEH HAJIAHMADI; HAKIMEH KHOSHVAGHT; MARZIYEH BAYAT. "Frequency and antimicrobial resistance of diarrhoeagenic Escherichia coli from young children in Iran". Journal of Medical Microbiology (2014), 63, 427-432.
2. SHIGEKO UEDA; MIKI IWASE; MANAMI YAMAGUCHI. "Evaluation of the Immunochromatographic Device for the Detection of Verotoxins in Cultures of Food Materials". Biocontrol Science, 2014, Vol. 19, No. 4, 205-208.
3. M.A. JORIS; D. VANROMPAY; K. VERSTRAETE; K. DE REU; L. DE ZUTTER. "Enterohemorrhagic Escherichia coli with particular attention to the German outbreak strain O104: H4". Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 2012, 81, pp. 3-10.

SYMBOLES IVD DES COMPOSANTS ET REACTIFS

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

