

1 | OBJECTIF

easyTETANOTOP est un test immunochromatographique rapide pour la détection des anticorps anti toxine tétanique dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Ce test permet la détection d'une immunité anti-tétanique. Le test easyTETANOTOP est destiné à un usage par des professionnels de santé au laboratoire d'analyse ou dans le cadre de l'arrêté TROD.

2 | INTRODUCTION

Le tétanos est une maladie aiguë et souvent mortelle induite par la toxine tétanique produite par la bactérie *Clostridium tetani* après contamination par une plaie ouverte et souillée. La toxine tétanique affecte les terminaisons nerveuses de tous les neurones périphériques, provoquant des spasmes musculaires généralisés et la mort.

L'immunisation est le meilleur moyen de prévenir les infections à *Clostridium tetani* chez les enfants et les adultes. La vaccination repose sur l'injection de toxine tétanique inactivée chimiquement (ex. toxoïde tétanique) et permet la production d'anticorps anti-toxine tétanique rendant ainsi le sujet immun à tous les effets de la toxine tétanique. Lorsque la vaccination est inconnue, incomplète ou absente, l'autre traitement prophylactique consiste en une injection directe d'immunoglobulines anti toxine tétanique purifiées pour contrecarrer les effets d'une infection aiguë par la toxine tétanique.

En médecine d'urgence, la prise en charge des patients souffrant de blessures à risque de tétanos dépend du statut vaccinal des patients et repose sur un simple rappel vaccin et/ou l'injection d'immunoglobulines anti toxine tétanique. Néanmoins, la pratique démontre que ce statut est le plus souvent méconnu des patients eux-mêmes.

easyTETANOTOP est un test immunochromatographique rapide permettant de connaître le statut immunitaire vis-à-vis du tétanos en quelques minutes et ainsi d'administrer la prophylaxie antitétanique la plus adaptée.

3 | PRINCIPE DU TEST

easyTETANOTOP est un test immunochromatographique rapide pour la détection des anticorps anti toxine tétanique dans le sérum, le plasma ou le sang total. Il utilise une combinaison de toxoïde tétanique purifiée fixée sur la membrane et d'une toxoïde tétanique marquée au latex. Une réaction entre un échantillon positif et la toxoïde marquée au latex forme un complexe qui migre le long de la membrane. Ce complexe est ensuite retenu par un antigène de capture (toxinoïde tétanique purifiée) immobilisé au niveau de la zone test (T), entraînant l'apparition d'une bande test grise. Une bande de contrôle interne mauve au niveau de la zone contrôle (C) permet de valider le bon fonctionnement du test.

4 | MATERIEL

Matériel fourni

- 25 pochettes individuelles contenant chacune :
 - o 1 sachet aluminium contenant une cassette réactive et un dessicant,
 - o 1 pipette de transfert capillaire à usage unique,
 - o 1 étiquette patient,
 - o 1 flacon de tampon de dilution (0,8 mL)
 - o 1 lancette stérile à usage unique.
- 1 notice d'utilisation.

Matériel nécessaire mais non fourni

- Chronomètre.
- Pipettes de laboratoire calibrées (pour utilisation sur sang veineux, sérum ou plasma).

5 | CONSERVATION ET STABILITE

Le kit doit être conservé entre 2°C et 30°C. NE PAS CONGELER.

6 | PRECAUTIONS

- Pour usage *in vitro* uniquement.
- Respecter la notice d'utilisation lors de la réalisation du test.
- Ne pas utiliser les composants du kit après la date d'expiration.
- Ouvrir le sachet juste avant la réalisation du test.
- Ne pas utiliser si le sachet en aluminium est endommagé.
- Ne pas inter-changer les réactifs de différents lots ni utiliser de réactifs provenant d'un autre kit.
- Respecter les bonnes pratiques de laboratoire. Se munir d'une blouse, de gants et de protections oculaires lors de la réalisation du test.
- Eviter les éclaboussures et formation d'aérosol.
- L'humidité et la température peuvent affecter le résultat du test.
- Les échantillons peuvent être contaminés par des agents infectieux. Considérer le matériel directement en contact avec les échantillons comme des produits contaminés. Traiter ensuite les différents éléments du test et les échantillons selon la procédure réservée aux produits contaminés.
- La fiche de données de sécurité est disponible sur demande.

7 | RECUEIL ET CONSERVATION DE L'ECHANTILLON

Il est recommandé de tester l'échantillon immédiatement après le recueil. Les échantillons de sérum peuvent être conservés jusqu'à 7 jours à 2-8°C ou jusqu'à 2 mois à -20°C et doivent ramenés à température ambiante avant la réalisation du test.

8 | REALISATION DU TEST

1. Laisser le kit complet ainsi que les échantillons et/ou contrôles se stabiliser à température ambiante (15-30°C) avant la réalisation du test.
2. Ouvrir la pochette aluminium, retirer la cassette test easyTETANOTOP de son emballage et la poser sur une surface propre et plane.
3. Prélèvement, recueil et préparation de l'échantillon :
 - Sang total capillaire :
 1. Désinfecter le doigt. Piquer la pulpe du doigt avec une lancette à usage unique.
 2. Masser le doigt de façon à faire perler une goutte de sang.
 3. A l'aide d'une pipette de transfert capillaire fournie, recueillir la goutte de sang en approchant la pipette horizontalement sans appuyer sur la poire. Le volume de sang doit atteindre le trait noir sur la pipette (correspondant à un volume de 20 µL).
 4. Décharger le contenu de la pipette dans le puits échantillon (S) de la cassette en appuyant sur la poire.
 - Sérum, plasma, sang total veineux recueilli sur EDTA ou héparine :
 1. Prélever et recueillir le sérum sur tube sec, le plasma ou le sang total veineux sur tube EDTA ou héparine.
 2. A l'aide d'une pipette de laboratoire, déposer exactement **20 µL goutte de sang total veineux ou 10 µL de sérum ou de plasma** dans le puits échantillon (S) de la cassette.
4. Attendre l'absorption complète de la goutte de sérum, de plasma ou de sang dans le puits échantillon (S) puis déposer **3 gouttes de tampon de dilution** dans le puits échantillon (S) de la cassette.
5. Lire le résultat à **10 minutes**. Ne pas interpréter les résultats après 20 minutes.
6. Après lecture, éliminer la cassette easyTETANOTOP selon la procédure réservée aux déchets potentiellement infectieux.

9 | RESULTATS



POSITIF* :

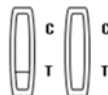
Deux bandes visibles : présence d'une bande colorée violette dans la zone contrôle (C) et d'une bande colorée violette dans la zone test (T). Un test positif témoigne d'une immunité suffisante vis-à-vis du tétanos.

**REMARQUE : l'intensité de la bande (T) ne doit en aucun cas être corrélée à un taux d'anticorps antitétaniques dans l'échantillon.*



NEGATIF :

Une bande visible : Présence d'une seule bande colorée violette au niveau de la zone contrôle (C). Un test négatif indique une immunité antitétanique absente ou insuffisante.



INVALIDE :

Aucune bande n'apparaît dans la zone contrôle (C) (quel que soit le résultat dans la zone T). Les résultats sans ligne de contrôle doivent être rejetés. Revoir la procédure et la répéter avec un nouveau dispositif de test. Si le problème persiste, contactez votre distributeur local.

10 | CONTROLE QUALITE

Contrôles internes :

Un contrôle de procédure est inclus dans le test. Une bande colorée mauve apparaissant dans la zone contrôle (C) constitue le contrôle procédural interne. Il confirme qu'un volume suffisant d'échantillon a été utilisé et que la technique procédurale est correcte.

Contrôles externes :

Les contrôles externes ne sont pas fournis avec ce kit. Néanmoins, les bonnes pratiques de laboratoire recommandent de réaliser un contrôle positif et négatif sur chaque nouveau lot ou à chaque nouvelle réception pour confirmer la procédure et vérifier les performances du test. Chaque laboratoire se doit de mettre en place son propre planning de contrôle. **Le contrôle positif peut être acheté auprès de BIOSYNEX sur demande.**

11 | PERFORMANCES

Valeurs attendues

Selon les recommandations de l'OMS, un taux d'anticorps supérieur à 0,1 UI/mL sur sérum est considéré comme protecteur vis-à-vis du TETANOS.

Sensibilité

Seuil de détection : Le seuil de détection du test easyTETANOTOP a été validé sur une gamme de dilution du standard OMS, testée en utilisant le protocole sérum/plasma (10 µL) en triplicat sur 5 lots de test avec les résultats lus par deux opérateurs. Cette étude a permis de définir que le seuil de détection du test easyTETANOTOP se situe dans une zone comprise entre 0,1 UI/mL et 0,25 UI/mL. Les valeurs seuil sur sang total veineux ou capillaire sont équivalentes à celles mentionnées ci-dessus car un volume double de sang est utilisé (20 µL).

Effet crochet : Le standard NIBSC #02/232 (anticorps anti-toxine tétanique lyophilisés) a été testé jusqu'à la concentration de 120 UI/mL sur 3 lots. Aucun effet crochet n'a été observé.

Spécificité

Interférences : Des échantillons contenant de la bilirubine, de la trioléine et de l'albumine à différentes concentrations ont été testés en triplicat. Aucune

discordance entre les résultats obtenus et les résultats attendus n'a été notée en présence de trioléine ou d'albumine. En revanche, la présence de 300 mg/mL de bilirubine des échantillons sériques (concentration normale de bilirubine dans le sérum : 3 à 10 mg/L) peut interférer avec les résultats des échantillons faiblement positifs. Une concentration de 300 mg/mL de bilirubine peut être retrouvée dans les cas de maladies hépatiques sévères nécessitant une hospitalisation

Anticoagulants : Des échantillons de plasma ont été prélevés sur tube Héparine ou EDTA. Aucune discordance entre les résultats obtenus pour les plasmas EDTA et héparine n'a été relevée.

Etudes cliniques

Sérum/plasma :

Une étude clinique a été réalisée en interne sur des échantillons de plasma et de sérum qualifiés et sur des échantillons de donneurs de sang. Les sérums correspondants ont été dosés par ELISA (Méthode Genzyme Virotech ref EC 124.00). Les résultats sont résumés ci-dessous :

Au seuil de 0,1 UI/mL :

Méthode		ELISA (seuil = 0,1 UI/mL)		Total
		Négatifs	Positifs	
easyTETANOTOP	Négatifs	356	95	451
	Positifs	10	716	726
Total		366	811	1177

Sensibilité relative : 88,3% (95%IC* : 85,9%-90,4%);

Spécificité relative : 97,3% (95%IC* : 95,0%-98,7%);

Corrélation : 91,1% (95%IC* : 89,3%-92,7%).

*Intervalle de confiance

Au seuil de 0,25 UI/mL :

Méthode		ELISA (seuil = 0,25 UI/mL)		Total
		Négatifs	Positifs	
easyTETANOTOP	Négatifs	436	15	451
	Positifs	64	662	726
Total		500	677	1177

Sensibilité relative : 97,8% (95%IC* : 96,4%-98,8%);

Spécificité relative : 87,2% (95%IC* : 84,0%-90,0%);

Corrélation : 93,3% (95%IC* : 91,7%-94,7%).

*Intervalle de confiance

La sensibilité du test easyTETANOTOP autour des valeurs seuil peut également être résumée ainsi :

Concentration (UI/mL)	% Positifs*	IC* 95%
< 0,1	2,7%	1,3-5,0%
[0,1-0,25]	44,1%	35,9-52,6%
> 0,25	97,9%	96,5-98,9%

*pourcentage d'échantillons détectés positifs par le test easyTETANOTOP.

Sang veineux :

Une étude clinique a été réalisée en interne sur des échantillons de sang total et sang EDTA non qualifiés provenant de donneurs de sang. Sur les 80 échantillons de sang EDTA testés, 80 ont rendu un résultat positif. Sur les 160 échantillons de sang total, 160 ont rendu un résultat positif.

12 I LIMITES DE LA PROCEDURE

- easyTETANOTOP est destiné à la détection des anticorps IgG anti-toxine tétanique dans le sérum, plasma ou sang total.
- L'absence de bande test (T) après la 20^{ème} minute peut témoigner d'un taux d'anticorps anti-toxine tétanique résiduel et non protecteur.
- Le choix de la prophylaxie antitétanique doit également reposer sur des critères cliniques (profondeur et souillure de la plaie).
- Pour des échantillons dont le titre en anticorps antitétaniques est compris entre 0,1 et 0,25 UI/mL, il existe une zone grise pour laquelle le test easyTETANOTOP peut rendre un pourcentage significatif de résultats négatifs.
- En cas de doute sur le résultat obtenu, il convient d'administrer par défaut la prophylaxie antitétanique la plus adaptée.

13 IBIBLIOGRAPHIE

- Kennedy, J.W., Carey, R.N., Coolen, R.B., et al, Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline (EP5-A). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999.
- Powers, D.M., Glick, M.R., et al, Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline (EP7-P). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Passey, R.B., Bee, D.E., Caffo, A., et al, Evaluation of the Linearity of quantitative Analytical Methods (EP6-P). Villanova, PA: The National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1986.
- Wang, A.S., Burns, G.F., Kronborg, I.J. and Mackay, I.R., Detection of antibodies to tetanus toxoid: comparison of a direct hemagglutination method with a radioimmunoassay, Journal of Clinical Pathology 35: 1138-1141 (1982).
- Kiessig, S.T., Hentschel, C., Jahn, S., Mehl, M., Starke, R. and Porstmann, T., A solid-phase enzyme immunoassay for the detection of tetanus toxin using human and murine monoclonal antibodies, Journal of Basic Microbiology 31: 135-140 (1991).
- Gergen, P.J., McQuillan, G.M., Kiely, M., Ezzati-Rice, T.M., Sutter, R.W. and Virella, G., A Population-Based Serologic Survey of Immunity to Tetanus in the United States, The New England Journal of Medicine 332(12): 761-766 (1995).
- Simonsen, O., Bentzon, M.W. and Heron, I., ELISA for the routine determination of antitoxic immunity to tetanus, Journal of Biological Standardization 14: 231-239 (1986).

SYMBOLES

	Consulter la notice d'utilisation		Contient suffisamment pour <n> tests		Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Limites de température		Ne pas réutiliser
	Fabricant		N° de Lot		Date de péremption

	Tampon d'extraction		Garder au sec		Importateur
	Mandataire dans l'Union Européenne		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation		

IFU_502880_FR_V08202208R01
Date de dernière révision : 08/2022