

1 I UTILISATION PREVUE

Le test HEMOTRUST® est un test immunochromatographique de détection qualitative de l'hémoglobine dans des échantillons de selles. Ce kit est destiné à être utilisé comme une aide au dépistage des pathologies gastro-intestinales basses comme le cancer colorectal et les lésions précancéreuses.

2 I RESUME

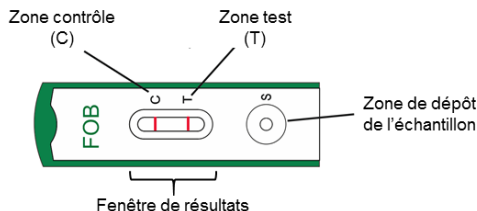
Le cancer colorectal est l'un des cancers le plus communément diagnostiqué et une cause principale de décès lié au cancer (Lieberman, 1994; MMWP, 1995). Le dépistage précoce du cancer colorectal améliore les chances de survie et donc réduit la mortalité (Dam et al. 1995; Miller, 1995; et Lang, 1996).

Les premiers tests FOB (Fecal occult blood) disponibles à la commercialisation utilisaient un la méthode au gaïac, nécessitant des restrictions alimentaires spéciales pour minimiser les résultats faux positifs et faux négatifs. Le test HEMOTRUST® utilise une technique immunologique par méthode sandwich pour la détection de l'hémoglobine dans les échantillons de selles sans contraintes de restrictions alimentaires, contrairement au test conventionnel gaïac (Frommer et al. 1988; St. John et al., 1993).

3 I PRINCIPE

Le test HEMOTRUST® est un test immunochromatographique rapide pour la détection qualitative de l'hémoglobine dans les selles. Chez les sujets sains, d'infimes traces de sang dans les selles sont détectables en absence de cancer ou toute autre pathologie sévère. C'est ce qu'on appelle la fuite physiologique. Pour que ces traces ne soient pas détectées, le seuil d'HEMOTRUST® est fixé au-dessus du seuil correspondant à la fuite physiologique.

Une paire d'anticorps anti-hémoglobine humaine est utilisée pour la détection d'hémoglobine dans les selles. Un premier anticorps est immobilisé au niveau de la ligne test (T) sur la membrane de nitrocellulose et sert ainsi d'anticorps de capture. Le second anticorps est couplé à des particules colorées et sert d'anticorps de révélation. Au cours de la migration du test, l'échantillon de selles dilué réagit avec les anticorps de révélation pour former un complexe antigène-anticorps. Le mélange migre le long de la membrane par capillarité et le complexe antigène-anticorps-particules est capturé par l'anticorps immobilisé au niveau de la ligne test (T). L'agglomération de complexes crée une bande de couleur pourpre visible au niveau de la ligne test (T). L'apparition d'une ligne colorée au niveau de la ligne test (T) indique donc un résultat positif, alors que son absence indique un résultat négatif. Une bande pourpre doit toujours apparaître au niveau de la ligne contrôle (C). Elle sert de contrôle de la procédure, confirmant qu'un volume suffisant d'échantillon a été utilisé, et que le test s'est déroulé correctement.



4 I PRECAUTIONS

- Le test est à usage unique, ne pas réutiliser.
- Ne pas utiliser les composants du kit après la date d'expiration imprimée (voir pochette scellée et étiquette sur la boîte).
- Ne pas utiliser le test si la pochette est abîmée.
- Les échantillons et le matériel utilisés doivent être considérés comme potentiellement infectieux et traités comme tels. Éliminer les composants usagés conformément aux procédures applicables aux déchets potentiellement infectieux et aux réglementations locales. Nettoyer la surface et tout liquide renversé avec un désinfectant approprié.
- Porter des équipements de protection individuelle (blouses de laboratoire, gants jetables et lunettes de protection) lors de la manipulation des échantillons.
- L'humidité et une température élevée peuvent affecter les résultats.
- Ne pas déposer ou renverser l'échantillon dans la fenêtre de lecture.
- Ne pas toucher la fenêtre de lecture afin d'éviter toute contamination.
- Ne pas mélanger les réactifs (i.e., cassettes test et flacons de tampon) provenant de lots différents.
- Éviter la contamination croisée des échantillons en utilisant un nouveau flacon de tampon d'extraction pour chaque échantillon.
- Fiche de données de sécurité disponible sur demande.

5 I CONSERVATION ET STABILITE

Le kit doit être stocké entre 2-30°C. Le test est stable jusqu'à la date d'expiration imprimée sur la pochette scellée. Le test doit rester dans la pochette scellée jusqu'à utilisation. NE PAS CONGELER.

Veillez à bien protéger les composants de ce kit de toute contamination. Ne pas utiliser le flacon de tampon d'extraction s'il y a suspicion de contamination microbienne (présence d'un trouble ou d'un précipité). La contamination biologique du tampon d'extraction peut conduire à un résultat erroné.

6 I MATERIEL

Matériel fourni

- Cassettes test en sachets individuels.
- Flacons (2 mL) compte-goutte de tampon d'extraction avec applicateur.

- Notice d'utilisation.

Matériel requis mais non fourni

- Pipette de laboratoire (pour prélèvement des selles liquides).
- Chronomètre.

7 I PRELEVEMENT ET PREPARATION DE L'ECHANTILLON

- Le test HEMOTRUST® est destiné uniquement à l'analyse d'échantillons de selles.
- Les patients ne doivent pas récupérer d'échantillons durant leur cycle menstruel, en cas d'hémorroïdes saignantes, de présence de sang dans les urines, d'occlusion ou en cas de constipation pouvant entraîner des blessures.
- L'alcool, l'aspirine, les anti-inflammatoires non stéroïdiens, ou d'autres molécules irritantes peuvent provoquer une irritation gastro-intestinale et des saignements invisibles. Il faut stopper la prise de ces substances 48 heures au moins avant la réalisation du test.
- Aucun régime alimentaire particulier n'est requis avant la réalisation du test.
- Si les échantillons doivent être expédiés, les emballer en respectant toutes les réglementations applicables au transport d'agents biologiques.

Prélèvement de l'échantillon :

- Utiliser un contenant propre et sec pour la collecte de l'échantillon de selles.
- Dévisser le flacon compte-goutte de tampon d'extraction et retirer l'applicateur. Ne pas éblouir ou renverser la solution du flacon. Recueillir des échantillons en insérant le bâton applicateur à 3 sites différents des selles.
REMARQUE : en cas de selles liquides, prélever 50 µL d'échantillon en utilisant une pipette de laboratoire et les introduire directement dans le flacon de tampon d'extraction.
- Remplacer l'applicateur dans le tube et visser le bouchon. Secouer vigoureusement le tube et s'assurer que l'échantillon et le tampon d'extraction soient parfaitement mélangés.
- L'échantillon dilué est maintenant prêt à être stocké, transporté ou testé.
- L'échantillon dilué doit être testé le plus rapidement possible.

8 I STOCKAGE DES ECHANTILLONS

Selles brutes :

Les meilleurs résultats seront obtenus si le test est réalisé dans les 6 heures suivant la prise d'échantillon à température ambiante (15-30°C). Les échantillons récupérés peuvent être stockés pendant 3 jours entre 2-8°C si non testés dans les 6 heures. Pour une plus longue conservation, les selles brutes peuvent être conservées à -20°C pendant 6 mois.

Echantillon dilué dans le tampon d'extraction :

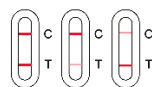
Une fois préparé dans le flacon de tampon d'extraction, les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 3 jours à 15-30°C ou 5 mois à 2-8°C. Pour une plus longue conservation, ils peuvent être conservés à -20°C pendant 6 mois.

9 I PROCEDURE

Ramener les tests, les réactifs, les échantillons de selles, et/ou les contrôles externes à température ambiante (15-30°C) avant le test.

- Oter le test de la pochette scellée et l'utiliser aussitôt.
- Inscrire la référence du patient ou le n° de contrôle sur la cassette test.
- Dévisser le capuchon rouge du flacon de tampon d'extraction pour accéder au compte-goutte. Tenir le flacon verticalement et verser 2 gouttes (environ 80 µL) de solution dans la zone de dépôt de l'échantillon (S) de la cassette. Éviter de capturer des bulles d'air dans le puits échantillon (S) et d'ajouter du liquide dans la fenêtre de résultats.
- Enclencher le minuteur quand le test commence à migrer.
- Quand le test commence à migrer, vous observerez un front coloré se déplaçant le long de la membrane.
- Interpréter les résultats après 5 minutes. Ne pas interpréter de résultat au-delà de 10 minutes.

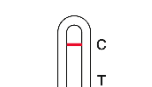
10 I INTERPRETATION DES RESULTATS



POSITIF :

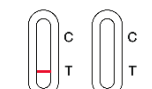
2 lignes apparaissent. Une ligne apparaît au niveau de la ligne contrôle (C) et une ligne au niveau de la ligne test (T). Un résultat positif indique que du sang a été détecté dans l'échantillon à un taux supérieur au seuil du test.

REMARQUE : L'intensité de la couleur de la ligne test (T) peut varier selon la concentration d'hémoglobine présente dans l'échantillon. Toute coloration, quel qu'en soit l'intensité, au niveau de la ligne test (T) doit donc être considérée comme positive. Noter que ce test est uniquement qualitatif et ne peut donc pas permettre de déterminer la concentration en hémoglobine.



NEGATIF :

Une ligne apparaît au niveau de la ligne contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît au niveau de la ligne test (T). Un résultat négatif indique qu'il n'y a aucune trace de sang dans l'échantillon ou que le taux est inférieur au seuil de détection du test.



INVALIDE :

La ligne contrôle n'apparaît pas. Une quantité d'échantillon insuffisante, un test défaillant ou une technique de procédure incorrecte sont les causes les plus vraisemblables d'un échec d'apparition de ligne contrôle.

Dans ce cas, revoir la procédure et refaire le test avec une nouvelle cassette. Si le problème persiste, cesser immédiatement d'utiliser ce kit et contacter le distributeur local.

11 | CONTROLE QUALITE

Contrôles internes :

Un contrôle interne de procédure est inclus dans le test. Une ligne pourpre apparaissant dans la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne de migration. Elle confirme que le volume d'échantillon est suffisant, que la membrane est intègre et que la procédure technique est correcte.

Contrôles externes :

Les contrôles externes ne sont pas fournis dans ce kit. Il est néanmoins recommandé selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire de tester des contrôles positifs et négatifs pour confirmer la procédure de test et de vérifier les performances de celui-ci.

12 | LIMITES

- Le test HEMOTRUST® doit être utilisé pour la détection qualitative de sang dans les selles.
- Comme pour tous les tests de diagnostic, un diagnostic clinique définitif ne doit pas se baser sur les résultats d'un simple test rapide mais doit être réalisé par un médecin après que tous les résultats cliniques et laboratoires aient été évalués.
- Des résultats négatifs n'excluent pas la présence de lésions cancéreuses ou précancéreuses car des polypes ou des cancers des régions colorectales peuvent ne pas saigner ou par intermittence. De plus, le sang peut ne pas être uniformément réparti dans les échantillons de selles. Les polypes colorectaux, à un stade précoce, peuvent ne pas saigner.
- La contamination de l'échantillon de selle par de l'urine ou l'eau des toilettes peuvent fausser les résultats du test.
- Tous les saignements colorectaux ne sont pas dus à des polypes précancéreux ou cancéreux. Noter que la présence de sang dans les échantillons de selle peut être liée à d'autres causes qu'un saignement colorectal, par exemples des hémorroïdes, du sang dans les urines ou une irritation de l'estomac.

Les facteurs non cancéreux suivants peuvent provoquer l'apparition de sang dans les selles :

1) Médicaments

Des traitements à base d'aspirine (acide acétylsalicylique) ou d'anti-inflammatoires non stéroïdiens peuvent causer des saignements, et mener à l'obtention d'un résultat faussement positif.

3) Hémorroïdes

Les hémorroïdes peuvent saigner. Les selles peuvent donc être contaminées avec du sang qui n'est pas lié à un cancer.

4) Règles

De petites quantités de sang liées au cycle menstruel des femmes peuvent contaminer les échantillons de selle. Ce sang n'est pas lié au cancer.

5) Échantillons contaminés par l'urine

Différentes pathologies peuvent provoquer l'apparition de sang dans les urines. Pour éviter la détection de sang lié aux urines, les échantillons de selles ne doivent pas entrer en contact avec de l'urine.

13 | CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCES

Précision

Le test HEMOTRUST® a été comparé à un autre test rapide commercial en utilisant des échantillons cliniques.

Méthode	Autre test rapide		Total
	Positifs	Négatifs	
HEMOTRUST	Positifs	210	6
	Négatifs	12	850
Total	222	856	1078

Sensibilité relative : 94,6% (95%IC*: 90,7%–97,2%)

Spécificité relative : 99,3% (95%IC*: 98,5%–99,7%)

Précision : 98,3% (95%IC*: 97,4%–99,0%)

*Intervalle de confiance

Sensibilité

La cassette HEMOTRUST® détecte le sang dans les selles à un seuil de 6µg/g de selles (=50 ng hémoglobines/mL de tampon d'extraction).

Effet crochet

Un effet crochet a été démontré pour des concentrations en hémoglobine humaine supérieures à 10 µg/mL.

REMARQUE : en cas de résultat négatif obtenu sur un échantillon dont l'aspect macroscopique laisse suspecter la présence de sang, re-tester l'échantillon en procédant à une dilution au dixième préalable de l'échantillon dans du tampon d'extraction.

Précision intra-essai

La variabilité au cours de l'essai a été déterminée en testant une série de 10 répliques de trois échantillons contenant une concentration d'hémoglobine différente : négatif, 50 ng/mL, et 10 µg/mL. Les échantillons ont été correctement identifiés dans plus de 99% des cas.

Précision inter-essai

La variabilité entre les essais a été déterminée en procédant à 10 tests indépendants sur trois échantillons contenant une concentration d'hémoglobine différente : négatif, 50 ng/mL, et 10 µg/mL. 3 lots différents de cassettes tests HEMOTRUST® ont été utilisés. Les échantillons ont été correctement identifiés dans plus de 99% des cas.

Substances interférentes

Les substances suivantes potentiellement interférentes ont été ajoutées aux échantillons positifs et négatifs en Hémoglobine.

Acide ascorbique 20mg/dL,
Bilirubine 100mg/dL,
Aspirine 20mg/dL,
Glucose 2000mg/dL,
Albumine 2000mg/dL

Acide oxalique 60mg/dL,
Acide urique 60mg/dL,
Urée 2000mg/dL,
Caféine 40mg/dL,

Aucune substance n'a montré d'interférence quand testée à la concentration mentionnée.

Réactivités croisées

Le test HEMOTRUST® est spécifique de l'hémoglobine humaine. Des échantillons contenant les substances citées ci-après ont été dilués dans la solution tampon d'extraction à une concentration de 1,0 mg/mL et testés avec des contrôles négatifs et positifs sans affecter les résultats : hémoglobine de vache, hémoglobine de poule, hémoglobine de porc, hémoglobine de chèvre, hémoglobine de cheval, hémoglobine de lapin et hémoglobine de dinde.

14 | BIBLIOGRAPHIE

- Simon JB. Occult Blood Screening for Colorectal Carcinoma: A Critical Review Gastroenterology, 1985; 88: 820.
- Blebea J, McPherson RA. False-Positive Guaiac Testing With Iodine, Arch Pathol Lab Med, 1985;109:437-40.

SYMBÔLES

	Consulter la notice d'utilisation		Contient suffisamment pour <n> tests		Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Limites de température		Ne pas réutiliser
	Fabricant		Numéro de lot		Date de péremption
	Diluant		Garder au sec		Importateur
	Mandataire dans l'Union Européenne		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé et consulter la notice d'utilisation		

IFU_1110002_FR_V03202206R03

Date de dernière révision : 06/2022