

HAT Sero K-SeT



www.corisbio.com



Fabricant:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Produit en BELGIQUE

IFU-58S2/T1/03

Test de détection rapide *in vitro* d'anticorps dirigés contre *Trypanosoma brucei gambiense* dans le sérum, le plasma ou le sang total humain

POUR USAGE *IN VITRO*

POUR USAGE PROFESSIONNEL UNIQUEMENT

Références: K-15S2, 40 tests par trousse, avec accessoires
K-12S2, 40 tests par trousse, sans accessoires

FR

I. INTRODUCTION

La *trypanosomiase Humaine Africaine (THA)* ou *maladie du sommeil* est une maladie tropicale mortelle négligée qui affecte les populations rurales en Afrique sub-Saharienne. En Afrique centrale et de l'ouest, la forme chronique de la *maladie du sommeil* est causée par un parasite protozoaire : *Trypanosoma brucei (T.b.) gambiense*¹. Celui-ci est transmis par piqûre de la mouche hématoophage *Tsé-tsé*².

La *THA* cause de graves troubles neurologiques et résulte souvent en une issue fatale si la maladie n'est pas traitée. En outre, les personnes affectées font office de réservoir³.

Comme la prévalence de la *THA* est en constante diminution, le développement d'un test de détection rapide individuel, caractérisé par une haute spécificité, stable à température ambiante et facilement réalisable est devenu primordial⁴.

II. PRINCIPE DU TEST

Le *HAT Sero K-SeT* est un test immunochromatographique en cassette, prêt à l'emploi, dont le principe général est basé sur la migration de l'échantillon sur une membrane. Une membrane de nitrocellulose est sensibilisée de façon à capturer les anticorps de l'échantillon la traversant. Ceux-ci sont alors révélés à l'aide d'un conjugué d'or colloïdal. La spécificité de la réaction est assurée par l'utilisation d'antigènes spécifiques du *T.b. gambiense* : les glycoprotéines variables de surface LiTat 1.3 et LiTat 1.5¹.

L'échantillon doit être directement déposé dans la fenêtre de dépôt de la cassette puis deux gouttes de tampon sont ajoutées dans cette même fenêtre de dépôt. A l'ajout du tampon, le conjugué est solubilisé et entraîné avec l'échantillon. Il migre par diffusion passive jusqu'aux réactifs adsorbés sur la membrane de nitrocellulose. Si l'échantillon contient des anticorps anti-*T.b. gambiense*, le complexe anticorps-conjugué se fixe sur la ligne test et une ligne rouge apparaît. La solution continue alors sa migration jusqu'à rencontrer un second réactif qui accroche le conjugué contrôlé de migration. Une deuxième ligne rouge apparaît, confirmant que le test a fonctionné correctement. Le résultat est visible dans la fenêtre de lecture endéans les 15 minutes.

III. REACTIFS ET MATERIEL

1. Gambiense Sero K-SeT (40)

Pochettes scellées contenant une cassette et un dessiccant. Chaque cassette contient une tigelette sensibilisée.

2. Notice d'utilisation (1)

3. Aide-mémoire (1)

4. Tampon BL-A (6 mL)

Solution saline tamponnée à pH 7.5 contenant du TRIS, de l'EDTA, du Na₂S₂O₃ (<0,1%), un détergent et des protéines de blocage.

5. Tubes capillaires héparinés de prélèvement sanguin (50)

6. Micropipette capillaire (2)

7. Matériel nécessaire (fourni avec la version K-15S2)

- Lancettes de prélèvement sanguin
- Tampons pré-imprégnés d'alcool

Matériel nécessaire non fourni :

- Gants
- Cotons stériles

IV. PRECAUTIONS D'EMPLOI

- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire (BPL).
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur de s'assurer que le technicien qui réalise le test est formé à la manipulation des accessoires fournis.
- Les composants de la trousse sont à utiliser en diagnostic *in vitro*, uniquement.
- Ouvrir la pochette de la cassette avec précaution au moment de la réalisation d'une analyse.
- Eviter de toucher la nitrocellulose avec les doigts.
- Porter des gants pendant la manipulation des échantillons.
- **Ne jamais utiliser les réactifs ou le tampon d'une autre trousse.**
- Les sites d'adsorption des immunoréactifs sur la membrane de nitrocellulose sont signalés par les bandes vertes. La couleur verte disparaît pendant la réaction.

- La qualité des réactifs ne peut pas être assurée au-delà de leur date de péremption ni si ils n'ont pas été conservés dans les conditions indiquées sur la pochette contenant la cassette

V. ELIMINATION DES DECHETS

- Eliminer les gants, lancettes, tubes capillaires, tampon d'alcool et cassettes usagées conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit assurer l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

VI. CONSERVATION

- Une trousse non ouverte doit être conservée entre 4 et 30°C et utilisée avant la date de péremption indiquée sur la boîte. Une fois la pochette ouverte, démarrer l'analyse immédiatement.
- Les cassettes et le tampon ne doivent pas être congelés.

VII. PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

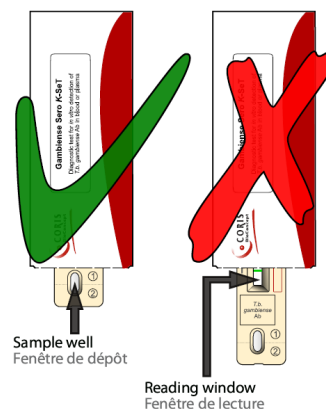
Un échantillon devrait être analysé aussi rapidement que possible après son prélèvement. Un échantillon de sang total doit être analysé **directement** après son prélèvement. Un échantillon de sérum ou de plasma peut être conservé 1 semaine à 2-8 °C ou à -20 °C pour une plus longue période.

Aucune réactivité croisée n'a été constatée avec l'EDTA, l'héparine ou le citrate.

VIII. PROCEDURE

Préparation du test

1. Laisser les composants de la trousse, dans leur emballage, ainsi que les échantillons revenir à température ambiante avant de réaliser l'analyse.
2. Ouvrir la pochette. Une fois celle-ci ouverte, réaliser l'analyse **immédiatement**.
3. Indiquer le nom du patient ou le numéro de l'échantillon sur la cassette (une cassette par échantillon).
4. Vérifier que les deux lignes vertes soient présentes dans la fenêtre de lecture. Si ce n'est pas le cas, prendre une autre cassette.
5. Pour la suite du test, repousser partiellement la cassette dans la pochette de telle sorte que la fenêtre de dépôt soit visible mais que la fenêtre de lecture soit cachée.



Préparation d'un échantillon de sang au bout du doigt :

1. Piquer avec une micro-lancette le bout du doigt du patient précédemment désinfecté.
2. Essuyer la première goutte de sang avec un coton stérile.
3. Remplir complètement un tube capillaire hépariné fourni avec la trousse. Le volume prélevé est approximativement de 25 µL. Eviter d'introduire des bulles d'air dans le tube.

Réalisation du test:

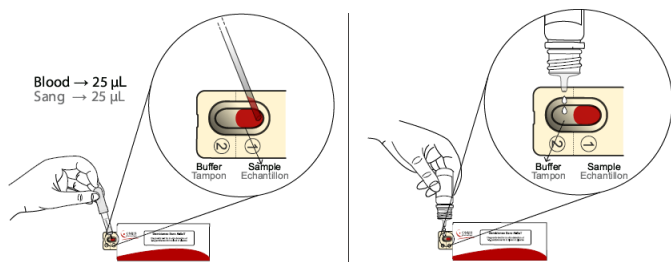
A. Sur sang total:

Prélever 25 µL de sang avec un tube capillaire (sang au bout du doigt ou sang veineux – micropipette capillaire fournie) ou une micropipette (sang veineux uniquement – non fournie) et déposer le tout **du côté intérieur** de la fenêtre de dépôt de la cassette comme illustré ci-dessous (zone « 1 » de la fenêtre de dépôt).

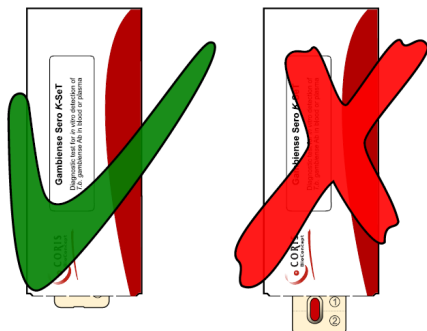
B. Sur sérum ou plasma:

Prélever 15 µL de sérum ou de plasma et déposer le tout du côté intérieur de la fenêtre de dépôt de la cassette (système de prélèvement et de transfert non fournis) comme illustré ci-dessous (zone « 1 » de la fenêtre de dépôt).

2. Ajouter **immédiatement** 2 gouttes (avec le flacon compte-gouttes fourni) ou 85 µL de tampon BL-A **du côté extérieur** de la fenêtre de dépôt comme illustré ci-dessous (zone « 2 » de la fenêtre de dépôt). Pour obtenir des tailles de gouttes uniformes, **ne pas toucher la membrane** de la fenêtre de dépôt avec le compte-goutte du flacon et tenir celui-ci **verticalement**.



3. Repousser l'entièreté de la cassette dans la pochette afin d'éviter l'évaporation du tampon et maximiser l'efficacité du test.



4. Laisser incuber 15 minutes dans la pochette.
5. Après 15 à 20 minutes, sortir la cassette de la pochette. Observer les résultats dans la fenêtre de lecture.

REMARQUES

Si l'échantillon est prélevé à l'aide d'un tube capillaire, le temps écoulé entre son prélèvement et son dépôt sur la cassette ne peut excéder 30 minutes.

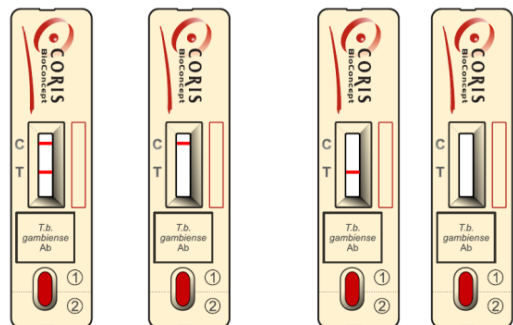
Le test doit être lu immédiatement lors de son retrait de la pochette.

Ne pas tenir compte de l'apparition de nouvelles lignes lorsque le temps d'incubation est dépassé.

Ne pas utiliser une micropipette capillaire qui a été contaminée par un échantillon.

IX. INTERPRÉTATION DES RESULTATS

Les résultats doivent être interprétés de la façon suivante :



Positive
Positif

Negative
Négatif

Invalid
Invalide

Invalid
Invalide

Test négatif : une bande rouge apparaît dans la fenêtre de lecture au niveau de la ligne Contrôle (C). Aucune autre ligne n'est présente.

Test positif : la ligne rouge de Contrôle (C) et la ligne rouge de Test (T) sont toutes deux visibles. L'intensité des lignes Tests peut varier en fonction de la quantité d'antigènes présente dans l'échantillon. Un signal faible sur une ligne Test (T) doit être interprété comme un résultat positif.

Test invalide : aucune bande rouge n'apparaît au niveau de la ligne Contrôle (C). L'absence de la ligne contrôle (C) rend le résultat ininterprétable. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec une nouvelle cassette.

Remarque : durant la période de séchage, qui commence après 20 minutes de migration, une ombre peut apparaître au niveau de la ligne Test (T). Ceci ne peut en aucun cas être considéré comme un signal positif.

X. PERFORMANCES

A. Sensibilité – Spécificité

Une évaluation de Phase II a été réalisée sur terrain sur 493 personnes en région endémique en République Démocratique du Congo (RDC) avec comme méthode de diagnostic de référence la parasitologie.

Parasitologie	Positif	Négatif	Total
HAT Sero K-Set			
Positif	132	5	137
Négatif	2	354	356
Total	134	359	493

95 % intervalle de confianceⁱⁱ

Sensibilité:	98.5%	(de 94.2 à 99.7%)
Spécificité:	98.6%	(de 96.6 à 99.5%)
Valeur prédictive positive:	96.4%	(de 91.3 à 98.6%)
Valeur prédictive négative:	99.4%	(de 97.8 à 99.9%)
Concordance:	98.6%	(486/493)

B. Répétabilité

Des essais de répétabilité intra-lot ont été menés en répétant 15 fois des mesures sur des échantillons positifs et des tampons. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas.

XI. LIMITES DU TEST

Ce test est uniquement qualitatif et ne peut donc fournir d'information quant au titre en anticorps de l'échantillon analysé. Des tests parasitologiques supplémentaires doivent être réalisés pour établir le diagnostic. Le contexte clinique et le résultat d'autres tests (anamnèse) doivent être pris en considération pour établir un diagnostic.

Ce test détecte les anticorps présents dans le sérum, le plasma ou le sang total du patient mais pas les antigènes. Ainsi, des résultats faussement positifs peuvent apparaître si le patient a été en contact avec le *T. brucei gambiense* même si il n'est plus affecté. En outre, un taux très faible de ces anticorps peut mener à l'apparition de résultats faussement négatifs.

Les patients infectés avec des souches de *T. brucei* ne présentant ni l'antigène LiTat 1.5 ni l'antigène LiTat 1.3 ne peuvent pas être détectés par ce test.

Un test positif ne permet pas d'éliminer la possibilité de présence d'autres agents pathogènes.

XII. PROBLEMES TECHNIQUES / RECLAMATIONS

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celles indiquées dans cette notice,

1. Notez le N° de lot de la trousse concernée
2. Si possible, conservez l'échantillon ayant posé problème au congélateur, le temps de la gestion du problème
3. Contactez Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) ou votre distributeur local

XIII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Simarro PP, Jannin J and Cattand P: *Eliminating human African trypanosomiasis: Where do we stand and what comes next?*, PLoS Medicine 2008; 5: 174-180.
2. Malvy D and Chappuis F: *Sleeping sickness*, Clinical Microbiology and Infection 2011; 17: 986-995.
3. Chappuis F, Loutan L, Simarro P, Lejon V and Buscher P: *Options for Field Diagnosis of Human African Trypanosomiasis*, Clinical Microbiology Reviews 2005; 18.1: 133-146.
4. Büscher P, Gilman Q and Lejon V: *Rapid Diagnostic Test for Sleeping Sickness*, The New England Journal of Medicine 2013; 368-11: 1069-1070.
5. Büscher P, Mertens P, Leclipteux T, Gilman Q, Jacquet D, Mumba-Ngoyi D, Pati Pyana P, Boelaert M and Lejon V: *Sensitivity and specificity of HAT Sero-K-Set, a rapid diagnostic test for serodiagnosis of sleeping sickness caused by Trypanosoma brucei gambiense: a case-control study*, Lancet Glob Health 2014; Vol2: e359-e363.

Dernière révision: SEPTEMBRE 2014

REF	Numéro de catalogue		Fabriqué par
IVD	Dispositif de diagnostic in vitro		Limites de température
	Contenu suffisant pour <n> tests	DIL SPE	Diluant spécimen
	Lire le manuel d'utilisation		Usage unique
	Conserver au sec		A utiliser avant
DIL AS	Diluant (essai)	CONT Na ₃	Contient Sodium azide

ⁱⁱ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).