

VITASSAY

EHEC VT1+VT2

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

IUE-7455027-67 Ed01 Août 2023



**Réservé à un usage professionnel de diagnostic
in vitro.**

FR

UTILISATION PRÉVUE

Vitassay EHEC VT1+VT2 est un test immunologique rapide, en une étape, pour la détection qualitative simultanée des vérotoxines 1 et 2 (VT1 et VT2) produites par *E. coli* dans les selles humaines.

Test immunologique simple, non invasif et très sensible permettant de poser un diagnostic présomptif d'infection entérohémorragique à *E. coli* (EHEC).

INTRODUCTION

Les maladies diarrhéiques sont l'une des principales causes de morbidité et de mortalité infantiles dans les pays en développement, représentant environ 2 millions de décès par an. Parmi les agents étiologiques de la diarrhée dans les pays en développement, *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 régions. Six types différents de DEC ont été identifiés : *E. coli* entéroagréatif (EAEC), *E. coli* entérohémorragique (EHEC), *E. coli* entérotoxigène (ETEC) et *E. coli* adhérent de façon diffuse.

Les EHEC produisent la toxine de Shiga codée par stx1 (VT1) ou stx2 (VT2) et constituent le groupe le plus important d'agents pathogènes d'origine alimentaire apparus récemment. Il s'agit d'une cause majeure de gastro-entérite qui peut se compliquer d'une colite hémorragique ou d'un 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 des EHEC.

Les quatre principales voies de transmission des EHEC à l'homme ont été identifiées : la transmission par les aliments, la transmission par l'eau, la transmission de personne à personne et le 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 des échantillons de selles humaines.

Bande A : la zone de la ligne de test de la membrane de nitrocellulose est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre le VT1.

Bande B : la zone de la ligne de test de la membrane de nitrocellulose est pré-enduite avec des anticorps monoclonaux contre le VT2.

Au cours du processus, l'échantillon réagit avec les anticorps contre EHEC VT1 (bande A) et EHEC VT2 (bande B), formant des conjugués. Le mélange se déplace vers le haut de la membrane par capillarité. Si l'échantillon est positif à EHEC VT1, les anticorps présents sur la membrane (ligne de test) capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge est** visible sur la bande A. Si l'échantillon est positif à EHEC VT2, les anticorps présents sur la membrane (ligne de test) capturent le complexe conjugué et une ligne **rouge est** visible sur la bande B. Bien que l'échantillon soit positif ou négatif, le mélange continue à se déplacer sur les membranes et la ligne de contrôle **verte** apparaît toujours (pour les deux bandes).

La présence de ces lignes **vertes** (dans la zone de contrôle (C)) indique que le volume ajouté est suffisant, que le débit est correct et qu'il sert de contrôle interne pour les réactifs.

PRÉCAUTIONS

- Réservé à un usage professionnel *in vitro*.
- Ne pas utiliser après la date de péremption.
- N'utilisez pas le kit si l'étiquette scellant le carton extérieur est déchirée ou si les sacs sont ouverts ou endommagés à l'arrivée.
- N'utilisez pas les tests si le matériau déshydratant est manquant ou cassé à l'intérieur de la pochette en aluminium.
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales. Un nouveau test doit être utilisé pour chaque échantillon afin d'éviter les erreurs de contamination.
- Le matériel exposé aux échantillons doit également être considéré comme potentiellement dangereux et doit être manipulé de la même manière qu'un agent infectieux, conformément aux réglementations locales/nationales.
- Ne pas réutiliser. Il s'agit d'un dispositif à usage unique.
- Le matériel usagé doit être éliminé dans un conteneur approprié pour les risques biologiques après le test.
- Les réactifs contiennent des conservateurs. Éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. Consulter la fiche de données de sécurité, disponible sur demande.
- Les composants fournis dans le kit sont approuvés pour une utilisation avec le **Vitassay EHEC VT1+VT2**. Ne pas utiliser d'autres composants commerciaux du kit ni avec des composants d'autres lots.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire. Ces pratiques doivent inclure, sans s'y limiter, un équipement de protection individuelle (EPI), tel qu'une blouse de laboratoire, un masque chirurgical ou approprié ou un écran facial, des gants jetables et une protection oculaire. Prendre les précautions nécessaires lors du prélèvement, du transport, du stockage, de la manipulation et de l'élimination des échantillons. Chaque échantillon doit être

identifié correctement et sans équivoque afin de garantir la traçabilité des échantillons.

- En cas d'écoulement, nettoyer soigneusement avec un désinfectant approprié.
- Ne pas manger, boire ou fumer sur le lieu de travail.
- La présence de lignes jaunes dans la fenêtre de résultats (zone de la ligne de contrôle et zone de la ligne de test), avant l'utilisation du test, est tout à fait normale et n'implique pas une défaillance dans la fonctionnalité du test.
- L'interprétation visuelle des résultats est faite par des lignes colorées, l'interprétation des résultats devrait être faite par un utilisateur professionnel sans problèmes de visualisation et d'interprétation des couleurs.
- Un certificat d'analyse peut être fourni sur demande (non inclus).

STOCKAGE ET STABILITÉ

La température de stockage des kits doit être comprise entre 2 et 30 °C.

Ne pas congeler.

Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit.

Tous les composants du kit sont à usage unique et doivent rester dans leur emballage d'origine jusqu'à leur utilisation. Le test doit rester dans le sachet scellé jusqu'à son utilisation.

MATÉRIAUX

MATÉRIEL FOURNI	MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI
<ul style="list-style-type: none">▪ 25 tests/kit▪ Vitassay EHEC VT1+VT2▪ Notice d'utilisation.▪ 25 flacons avec le diluant pour l'échantillon de dilution.▪ 1 écouvillon de contrôle positif, contrôle positif de la vérotoxine 1▪ 1 écouvillon de contrôle positif, contrôle positif à la vérotoxine 2▪ 1 écouvillon de contrôle négatif Vitassay.	<ul style="list-style-type: none">▪ EPI, tels que des gants jetables▪ Récipient de collecte d'échantillons▪ Minuterie▪ Micropipette (en cas de selles liquides)

PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS

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

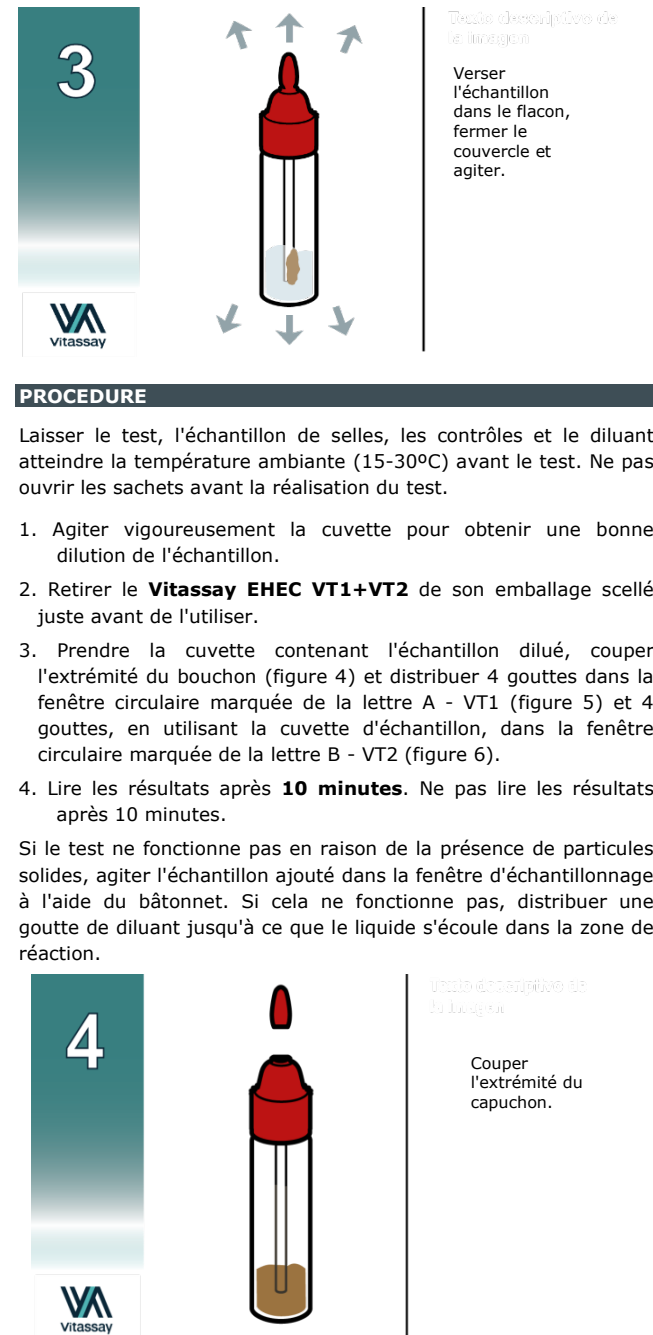
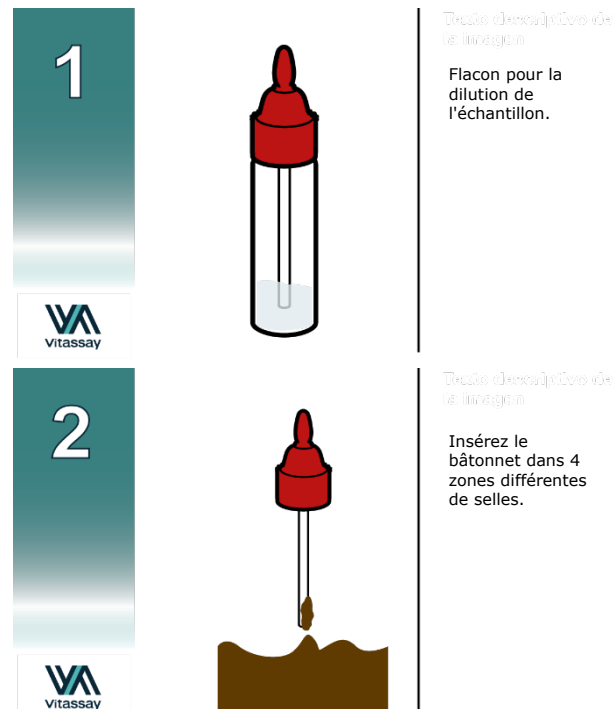
Les échantillons peuvent être conservés au réfrigérateur (2-8°C) pendant 24 heures. Pour une conservation plus longue, maximum 2 semaines, l'échantillon doit être gardé congelé à -20°C. Les

échantillons doivent être ramenés à température ambiante avant d'être testés.

Les cycles de congélation et de décongélation ne sont pas recommandés ; par conséquent, ne décongeler que la quantité d'échantillon nécessaire à la réalisation du test. Homogénéiser vigoureusement l'échantillon avant la préparation.

PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

1. Retirez le bouchon du tube de recueil des selles (figure 1).
2. Utilisez le bâtonnet pour collecter une quantité suffisante d'échantillon (environ 125 mg). Pour les selles solides, insérez le bâtonnet à 4 endroits différents de l'échantillon de selles (figure 2) et ajoutez-le dans le tube de collecte. Pour les selles liquides, prélevez 125 µl de l'échantillon à l'aide d'une micropipette et transférez-les dans le tube de collecte.
3. Fermer le tube contenant le diluant et l'échantillon de selles. Agiter le tube afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon (figure 3).



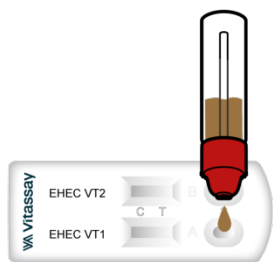
PROCEDURE

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

1. Agiter vigoureusement la cuvette pour obtenir une bonne dilution de l'échantillon.
2. Retirer le **Vitassay EHEC VT1+VT2** de son emballage scellé juste avant de l'utiliser.
3. Prendre la cuvette contenant l'échantillon dilué, couper l'extrémité du bouchon (figure 4) et distribuer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A - VT1 (figure 5) et 4 gouttes, en utilisant la cuvette d'échantillon, dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B - VT2 (figure 6).
4. Lire les résultats après **10 minutes**. Ne pas lire les résultats après 10 minutes.

Si le test ne fonctionne pas en raison de la présence de particules solides, agiter l'échantillon ajouté dans la fenêtre d'échantillonnage à l'aide du bâtonnet. Si cela ne fonctionne pas, distribuer une goutte de diluant jusqu'à ce que le liquide s'écoule dans la zone de réaction.

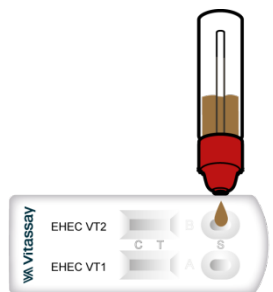
5



Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre A - VT1.

Image descriptive de la réaction

6



Déposer 4 gouttes dans la fenêtre circulaire marquée de la lettre B - VT2.

Image descriptive de la réaction

	Négatif	Positif	
	VERT	VERT-ROUGE	Présence d'E. coli dans le VT2. Infection possible causée par EHEC.
TOUT AUTRE RÉSULTAT			Résultat invalide, nous recommandons de répéter le test en utilisant l'échantillon avec un autre test. Remarque : des techniques de procédure incorrectes, un volume d'échantillon insuffisant 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 de test et contactez votre distributeur local.

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

LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Des contrôles de procédure internes sont inclus dans le **Vitassay EHEC VT1+VT2**. Les lignes vertes apparaissant dans la fenêtre de résultats sont des contrôles internes, qui confirment un volume d'échantillon suffisant et une technique de procédure correcte.

LIMITES

- Un excès d'échantillon de selles peut entraîner des résultats erronés (apparition de bandes brunes). Diluez l'échantillon avec le diluant et recommencez le test.
- L'intensité de la ligne de test peut varier en fonction de la concentration des antigènes.
- L'utilisation d'autres échantillons que les échantillons humains n'a pas été établie.
- Après une semaine d'infection, le nombre de bactéries dans les selles diminue, ce qui rend l'échantillon moins réactif. Les échantillons de selles doivent être prélevés dans la semaine qui suit l'apparition des symptômes.
- La qualité du **Vitassay EHEC VT1+VT2** dépend de la qualité de l'échantillon ; des échantillons fécaux appropriés doivent être obtenus.
- Les résultats positifs déterminent la présence de VT1 et/ou VT2 d'E. coli dans des échantillons de selles humaines. Un résultat

positif doit être suivi par des techniques de laboratoire supplémentaires pour confirmer les résultats et/ou déterminer la souche.

- Une infection confirmée ne doit être établie par un médecin qu'après l'évaluation de tous les résultats cliniques et de laboratoire et doit être basée sur la corrélation des résultats avec d'autres observations cliniques.
- Les résultats négatifs ne doivent pas être considérés comme concluants ; il est possible que la concentration d'antigènes soit inférieure à la valeur limite de détection. Si les symptômes ou la situation persistent, il convient d'effectuer une détermination EHEC sur un échantillon provenant d'une culture d'enrichissement.
- La vérotoxine 1 (toxine 1 de type Shiga) produite par EHEC est très similaire à celle produite par *Shigella dysenteriae* type 1 (toxine de Shiga). La vérotoxine 1 diffère de la véritable toxine de Shiga par un à sept acides aminés. Le **test Vitassay EHEC VT1+VT2** peut donner un résultat positif avec la toxine Shiga produite par *Shigella dysenteriae* type 1. La détermination des EHEC et de *Shigella dysenteriae* type 1 doit être effectuée sur une culture sélective et avec une analyse biochimique.
- Les échantillons de **selles sanglantes** et/ou **mucosées** peuvent provoquer des réactions non spécifiques lors du test. Ces échantillons positifs doivent être comparés à d'autres techniques de diagnostic pour confirmer le résultat.

VALEURS ATTENDUES

L'importance épidémiologique des types d'*Escherichia coli* diarrhéiques dans les diarrhées infantiles varie en fonction de la zone géographique. Comme prévu, il est apparu clairement qu'il existe d'importantes différences régionales dans la prévalence et les autres caractéristiques épidémiologiques de ces pathogènes.

Au Japon, l'EHEC a été à l'origine de 3 000 à 4 000 cas de maladie par an au cours de la dernière décennie.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité et spécificité cliniques

Une évaluation a été réalisée à l'aide du **Vitassay EHEC VT1+VT2** et les résultats ont été comparés à ceux d'un test commercial (Shiga Toxin Quik Chek, TechLab®) pour les vérotoxines 1 et 2.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

RÉSULTATS	Bande A EHEC VT1	Bande B EHEC VT2	INTERPRÉTATION
	Négatif	Négatif	Il n'y a pas de VT1 ou VT2 de présence d'E. coli. Pas d'infection causée par EHEC.
	VERT	VERT	
	Positif	Positif	Présence d'E. coli aux stades VT1 et VT2. Possibilité d'infection causée par EHEC.
	VERT-ROUGE	VERT-ROUGE	
	Positif	Négatif	Présence d'E. coli dans le VT1. Infection possible causée par EHEC.
	VERT-ROUGE	VERT	

Les résultats sont les suivants :

Shiga Toxin Quik Chek, TecLab® (en anglais)				
Vitassay EHEC VT1+VT2	Positif	4	0	4
	Négatif	0	30	30
	Total	4	30	34

Tableau 1. Résultats du **Vitassay EHEC VT1+VT2** comparés à ceux d'un kit commercial .

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

Tableau 2. Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et valeurs prédictives négatives du **Vitassay EHEC VT1+VT2** par rapport à un kit commercial .

Les résultats ont montré que le **test Vitassay EHEC VT1+VT2** présente une sensibilité et une spécificité élevées pour la détection des *EHEC*.

Réactivité croisée

Aucune réactivité croisée n'a été détectée contre d'autres pathogènes gastro-intestinaux occasionnellement présents dans les matières fécales :

<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>	

RÉFÉRENCES

1. FAKHRI HAGHI ; HABIB ZEIGHAMI ; FAHIMEH HAJIAHMADI ; HAKIMEH KHOSHVAGHT ; MARZIEH BAYAT. "Fréquence et résistance antimicrobienne des *Escherichia coli* diarrhéiques des jeunes enfants en Iran". Journal of Medical Microbiology (2014), 63, 427-432.

2. SHIGEKU UEDA ; MIKI IWASE ; MANAMI YAMAGUCHI. "Évaluation du dispositif immunochromatographique pour la détection des vérotoxines dans les cultures de matières alimentaires". Biocontrol Science, 2014, Vol. 19, No. 4, 205-208.

3. M.A. JORIS ; D. VANROMPAY ; K. VERSTRAETE ; K. DE REU ; L. DE ZUTTER. "Escherichia coli entérohémorragique avec une attention particulière pour la souche O104 : H4 de l'épidémie allemande". Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift, 2012, 81, pp. 3-10.

SYMBOLES POUR LES COMPOSANTS ET LES RÉACTIFS DE L'IVD

IVD	dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>		Maintenir au sec
	Consulter la notice d'utilisation		Limite de la température
	Expire le		Fabricant
LOT	N° de lot		Quantité suffisante pour <n> tests.
DIL	Diluant de l'échantillon	REF	Code produit
CE	Marquage CE		

Contrôle des modifications		
N° Version	changements	Date
IUE-7455027-67 Ed00 Avril 2016	Version originale	04/2016
IUE-7455027-67 Ed01 Août 2023	Le format a été mis à jour. Les sections relatives aux limitations ont été mises à jour. Une erreur de transcription a été corrigée dans la section sur l'interprétation. Des modifications rédactionnelles et grammaticales ont été apportées aux sections Précautions, Limitations, Collecte d'échantillons, Stockage et Stabilité. Le matériel requis mais non inclus a été mis à jour avec des changements mineurs.	25/08/2023

