

Disp&FLOW® – Doxycycline
Test rapide de détection de la Doxycycline
N° cat. : BIO.043.50
Nombre de tests : 50



Conserver entre +15°C et +30°C – Pour usage de diagnostic *in vitro* uniquement.

Nous vous recommandons de lire entièrement la notice avant de commencer le test. Bien que ce test de diagnostic soit conçu pour être facile d'utilisation et intuitif, les étapes décrites sont toutes nécessaires et vous devez vous conformer strictement à ce mode d'emploi pour vous assurer de la qualité des résultats.

Introduction

Ce kit est un test de diagnostic rapide sur membrane, sensible et spécifique, qui utilise un anticorps monoclonal spécifique de la Doxycycline pour détecter sa présence dans les urines. Un résultat positif confirme sa présence.

Principe de fonctionnement

Le test est prêt à l'emploi et repose sur l'utilisation d'un système homogène sur membrane comportant des particules de polymère rouge (ligne test) et des particules de polymère bleu (ligne contrôle). Il permet de détecter la doxycycline dans un échantillon d'urine. Si l'urine contient de la doxycycline à une concentration supérieure à la limite de détection, le conjugué anti-doxycycline réagit avec la doxycycline de l'échantillon d'urine, et **aucune ligne test n'apparaît**. Au cours du test l'urine migre pour rencontrer un réactif contrôle (ligne supérieure). Une ligne « Contrôle » apparaît alors attestant du bon fonctionnement du test.

Contenu du kit

- Le test Disp&FLOW –Doxycycline contient les éléments suivants :
- 2 tubes avec bouchon déshydratant contenant chacun 25 bandelettes
- 50 micropipettes de transfert à usage unique (volume fixe environ 400µL)
- 50 tubes à essai
- Une notice d'utilisation

Matériel nécessaire mais non fourni

- Paire de gants
- Flacons de prélèvement
- Chronomètre (option)

Précautions

- Les composants du kit sont à usage *in vitro* uniquement.
- Le kit peut être utilisé jusqu'à sa date de péremption s'il a été conservé dans les conditions indiquées dans cette notice.
- Ne pas utiliser le test au-delà de sa date de péremption.
- Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé ou si le tube est ouvert.
- Les flacons contenant les bandelettes doivent être conservés à température ambiante (entre +15°C et +30°C).
- Toutes les manipulations liées à l'utilisation de ce test doivent être effectuées dans le strict respect des conditions de non-contamination des échantillons ; en particulier, porter des gants pendant la manipulation.
- Les bandelettes doivent être manipulées par leur partie supérieure orange. Ne pas toucher directement la partie centrale de la bandelette composée de nitrocellulose ni son extrémité absorbante.
- **Les bandelettes doivent être conservées dans leur tube hermétiquement fermé. Le tube doit être refermé dès que le nombre nécessaire de bandelettes a été retiré** (les bandelettes sont très sensibles à l'humidité) – Ne pas utiliser une bandelette plus de 10 minutes après l'ouverture du tube.
- Ne jamais utiliser de constituants provenant de kits différents.
- **Veiller à ne pas immerger la bandelette plus profondément que la ligne placée sous les flèches.**
- Le test Disp&FLOW – Doxycycline ne contient que des éléments à usage unique ; ne pas réutiliser.

Elimination des déchets

- Eliminer tous les consommables utilisés conformément à la réglementation sur les déchets biomédicaux.
- Chaque utilisateur est responsable de la gestion des déchets qu'il produit et doit s'assurer de l'élimination de ces derniers en fonction de la réglementation applicable.

Conservation et stabilité

- Le kit doit être conservé entre +15°C et +30°C en atmosphère sèche et à l'abri de l'exposition du soleil.
- **Les bandelettes ne doivent pas être congelées et se conservent dans leur tube d'origine hermétiquement fermé.**
- Le kit doit être utilisé avant la date de péremption indiquée sur l'emballage (ou **6 mois après ouverture** dans l'intervalle de la péremption indiquée)

Prélèvements des échantillons d'urine

- Les échantillons d'urine doivent être collectés dans des récipients propres.
- Aucune centrifugation ou filtration des urines n'est requise.
- **Les échantillons d'urine doivent être testés le plus rapidement possible après collection (délai maximal de 4 heures).**
- Alternativement les échantillons d'urine peuvent être (i) conservés de 2°C à 8°C pendant 1 semaine avant d'être testés ou (ii) congelés et conservés à -20°C pour une utilisation ultérieure. Dans tous les cas il est impératif de ramener les échantillons à température ambiante avant d'effectuer le test.
- Agiter manuellement les échantillons en cas de formation de dépôt avant la réalisation du test (conservation prolongée).
- Eviter une exposition trop forte à la lumière afin de ne pas dégrader la Doxycycline (couvrir avec un papier aluminium si nécessaire).
- Les échantillons d'urine doivent être manipulés avec les précautions d'usage réservées aux échantillons potentiellement infectieux.

Procédure (cf. également ci-contre : Illustrations des étapes)

Laisser les réactifs, dans leur emballage fermé, et les échantillons s'équilibrer à température ambiante (15°C– 30°C) avant de débuter le test.

- 1- Prélever 400µL (+/- 50) de l'échantillon d'urine dans un tube à essai.
 - a. Utiliser la micropipette jetable fournie
 - b. Utiliser une micropipette de laboratoire
- 2- Sortir une bandelette de son tube et bien refermer le tube avec son bouchon déshydratant.
- 3- Immerger verticalement la bandelette dans le sens indiqué par les flèches.
- 4- Incuber la bandelette pendant 8+/-2 minutes dans l'échantillon d'urine.
- 5- Réaliser immédiatement la lecture et l'interprétation du test après retrait de la bandelette de l'urine.

Ne pas tenir compte de l'apparition de nouvelles lignes une fois le temps de l'ensemble des manipulations dépassé.
La lecture doit être réalisée sur bandelette humide après 10 minutes maximum d'incubation.

Interprétation des résultats

Les résultats sont à interpréter comme suit (cf. Point 5 en bas de page, § Illustrations des étapes) :

- 1- **Test négatif = Doxycycline non détectée : deux (2) lignes sont présentes.**
 Lorsque la ligne supérieure bleue (ligne contrôle) et la ligne inférieure rouge (ligne test) sont visibles. Le test doit être considéré comme **NEGATIF. L'urine ne contient pas de Doxycycline.** Un signal, même faible, sur la ligne de test doit être interprété comme un résultat négatif.
- 2- **Test positif = Doxycycline détectée : seule la ligne supérieure bleue est visible (ligne contrôle).**
 Le test doit être considéré comme **POSITIF. L'urine contient de la Doxycycline.**
- 3- **Test invalide : La ligne supérieure bleue n'apparaît pas (ligne de contrôle).**
 L'absence de la ligne contrôle rend le résultat ininterprétable. Dans ce cas **l'échantillon doit être retesté** avec une nouvelle bandelette.

Note : après séchage, une très légère ombre peut apparaître au niveau de la ligne test. Il ne faut pas en tenir compte dans l'interprétation des résultats.
 Pour le stockage des résultats, laisser la bandelette sécher après avoir enlevé le matériel absorbant qui se trouve en bas de celle-ci.

Performances

A. Limite de détection
 La limite de détection du test est $\geq 5\mu\text{g/mL}$ de Doxycycline. Le test révèle un résultat POSITIF (pas de Ligne Test) pour une concentration en Doxycycline dans l'urine supérieure à la limite de détection.

B. Evaluations
 Les tests de terrain réalisés jusqu'à ce jour ont montré pour toutes les bandelettes, la présence de Doxycycline dans les urines lors de prise de médicament concerné. La présence de Doxycycline a été confirmée pour chaque urine par HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) dans un laboratoire spécialisé.

C. Précision
 Des essais de répétabilité intra-lot ont été menés en répétant 20 fois des mesures sur des échantillons positifs et négatifs. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas. Des essais de répétabilité inter-lots ont été menés sur 3 lots pilotes différents et dans les mêmes conditions d'échantillons que ci-dessus. Les résultats ont été confirmés dans 100% des cas.

D. Interférences
 Le test présente une interférence avec les antibiotiques suivants : Anhydrotétracycline, Méthacycline (LOD<5µg/ml), 4-Epitétracycline (LOD<50µg/ml) et Oxytétracycline (LOD<100µg/ml). Les molécules suivantes : Proguanil, Mefloquine, Minocycline, Chlorotétracycline et la Tétracycline ne présentent aucune interférence à une concentration $\leq 100\mu\text{g/ml}$.

Limites du kit

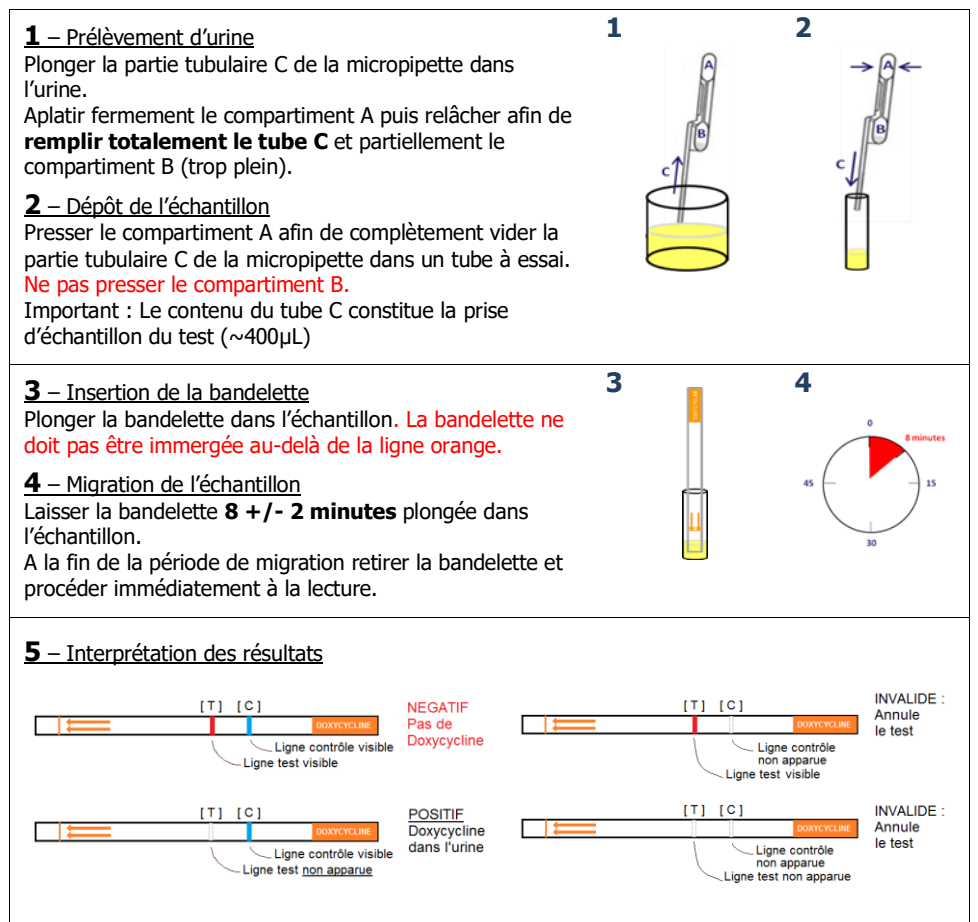
Ce test est uniquement qualitatif et ne permet pas de mesurer quantitativement la concentration de Doxycycline dans l'échantillon.
En aucun cas le test ne mesure la protection contre le paludisme ; son but est de détecter la prise d'anti-malariques dans sa limite de détection.

Problèmes techniques / Réclamations

Si vous rencontrez un problème technique ou si les performances ne correspondent pas à celle indiquées dans la notice :

1. Notez le N° de lot du kit concerné
2. Si possible conservez l'échantillon d'urine ayant posé problème au congélateur (-20°C), et la bandelette à température ambiante, le temps de la gestion du problème.
3. Contactez BIOTEM (info@biotem.fr) ou votre distributeur local

Illustrations des étapes



1 – Prélèvement d'urine
 Plonger la partie tubulaire C de la micropipette dans l'urine.
 Aplatir fermement le compartiment A puis relâcher afin de **remplir totalement le tube C** et partiellement le compartiment B (trop plein).

2 – Dépôt de l'échantillon
 Presser le compartiment A afin de complètement vider la partie tubulaire C de la micropipette dans un tube à essai.
Ne pas presser le compartiment B.
 Important : Le contenu du tube C constitue la prise d'échantillon du test (~400µL)

3 – Insertion de la bandelette
 Plonger la bandelette dans l'échantillon. **La bandelette ne doit pas être immergée au-delà de la ligne orange.**

4 – Migration de l'échantillon
 Laisser la bandelette **8 +/- 2 minutes** plongée dans l'échantillon.
 A la fin de la période de migration retirer la bandelette et procéder immédiatement à la lecture.

5 – Interprétation des résultats

INVALIDE : Annule le test
 INVALIDE : Annule le test

NEGATIF Pas de Doxycycline
 POSITIF Doxycycline dans l'urine



Fabriqué par : BIOTEM

Parc d'activité Bièvre Dauphine – 885 rue Alphonse Gourju – 38140 APPRIEU – France

Tel : +33476 65 10 91 / Fax : +33476 67 48 86

info@biotem.fr

Disp&FLOW®–Doxycycline
Rapid test for detection of Doxycycline
N° cat.: BIO.043.50
Number of tests: 50



Store between 15°C and 30°C (59°F and 86°F)
For *in vitro* use by professionals only.
We recommend reading entirely these instructions before using the test.

Introduction

This kit is a highly sensitive, specific and rapid lateral flow test that uses doxycycline-specific monoclonal antibody to detect its presence in urine samples. A positive test confirms the presence of doxycycline in the urine.

Basics of the test

This is a ready-to-use membrane test using red polymer particles labeling (test line) and blue polymer particles labeling (control line) that identifies the presence of doxycycline molecules in the urine sample.

If doxycycline is present in the urine sample at a concentration higher than the detection limit, the anti-doxycycline conjugates will react with these doxycycline molecules and **no test line will appear on the test strip.**

Urine will continue to migrate until it reaches a control reagent (upper line) that binds the control conjugate, thus producing a "migration control" line indicating that the test is functioning correctly.

Kit contents

- Disp&FLOW – Doxycycline kit contains the following:
 - 2 vials with desiccant cap each containing 25 strips for doxycycline testing
 - 50 disposable micropipettes (with a fixed volume of 400 µL)
 - 50 test tubes
 - Instructions for use.

Material necessary but not provided

- Gloves
- Sampling vials
- Timer (option)

Precaution

- All reagents are for *in vitro* detection use only.
- The kit can be used until expiry date under condition that it has been stored as indicated in this manual.
- Do not use the test after expiry date.
- Do not use the test if the packaging is damaged or if the vial is opened.
- The vials containing the strips must be kept at room temperature (between 15 and 30°C).
- All operations related to the use of this kit must be performed under strict hygienic conditions. Wear gloves when handling samples.
- Strips should be **handled only** by the upper orange part. Avoid any contact with the middle part of the strip which is composed of fragile nitrocellulose.
- The vials holding the strips contain a desiccant (in the cap) and should be kept tightly closed. The vial must be closed as soon as the required numbers of strips has been removed.** Strips are sensitive to ambient humidity – Do not use a strip more than 10 minutes after its removal from the vial.
- Use only tubes and disposable pipettes provided within the kit. Never use reagents from another kit (using other tube size and/or quality may affect the test).
- Do not dip the strips deeper in the urine sample than the black line under the arrows.**
- Strips and accessories provided within this kit are for single use only.**

Waste disposal

- Dispose of gloves, test tubes and used kits in accordance with biomedical waste regulations.
- Each user is responsible for the management of waste produced, and must ensure that it is disposed of in accordance with applicable legislation.

Storage and stability

- For optimal performance the kit should be stored between 15°C and 30°C (59°F and 86°F) in a dry place and protected from direct exposure to sunlight.
- Do not freeze the strips as this may cause malfunction of the test**
- The strips should be stored in provided desiccant tubes hermetically closed.**
- The kit expires on the date indicated on the box (or **6 months after opening** within the indicated expiry date)

Sample handling and collection

- Urine samples should be collected in a clean container.
- No centrifugation or filtration of urine is required.
- For optimal results urine samples must be tested as soon as possible after collection no more than 4 hours before being tested.**
- Alternatively, urine samples can be (i) stored between 2°C and 8°C (36°F to 46°F) before being tested or (ii) frozen and kept at -20°C (-4°F) for later use. In all cases, samples must be brought to room temperature before testing.
- Disperse any precipitate by gentle agitation (prolonged storage).
- Avoid excess exposition to light as doxycycline may be degraded** (cover with aluminum paper for optimal protection if necessary).
- Urine samples should be handled with care as they are potentially infectious.

Procedure (cf. figure 1)

Before testing, allow the urine samples to reach room temperature (15°C – 30°C or 59°F – 86°F) in their closed container.

- Place 400 µL (+/-50) of urine sample in the test tube
 - Use a disposable pipette
 - Or use a laboratory pipette
- Remove a strip from the desiccant vial.
- Place the strip vertically into the test tube containing the urine sample (**do not immerse the strip above the line placed under the arrows**).
- Incubate for 8 +/- 2 minutes.
- Remove test strip from the urine sample and immediately read the results.

Ignore the appearance of any new line appearing on the test strip after the waiting time.

Reading should be done on humid strip after 10 minutes maximum.

Interpreting results

The results are to be interpreted as follow (cf. Figure 1):

1- **Negative test = No doxycycline has been detected:** Two (2) lines are present on the test strip. When the upper control line (blue) and the lower test line (red) appear on the test strip, the test must be considered as **NEGATIVE. The urine sample does not contain doxycycline.** Any test line (red), even weak, should be considered as a negative result.

2- **Positive test = Doxycycline has been detected:** Only one (1) line is present (blue control line). The test must be considered as **POSITIVE. The urine sample contains doxycycline.**

3- **Invalid test:** There is no detectable upper blue control line. The absence of a control line indicates a failure in the test procedure. **A new test must be performed** using a new urine sample and new test strips.

Note: After the drying process, a very faint shadow may appear at the test line position. It should not be regarded as a negative result.

To store the result, allow the test strip to dry after removing the absorbent material at its base.

Performance

A. Detection limit

The detection limit of the test is $\geq 5\mu\text{g/mL}$ Doxycycline. The test provides POSITIVE results (no test line, only the upper blue control line) for doxycycline concentrations above the detection limit.

B. Evaluations

All field tests demonstrated a positive result with all the strips tested (presence of doxycycline) when the doxycycline had been taken. The presence of doxycycline in urine samples was confirmed in a specialized lab by HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

C. Accuracy

In order to check intra-batch accuracy, the same positive and negative samples were processed 20 times on test strips of the same production batch under the same experimental conditions. Results were confirmed for 100% of the samples.

In order to check intra-batch accuracy, some samples (positive and negative) were processed on the strips from three (3) different production batches. All results were confirmed to be accurate.

D. Interference

The test shows interference with the following antibiotics: Anhydrotetracycline, Méthacycline (LOD<5µg/ml), 4-Epitetracycline (LOD<50µg/ml) and Oxytétracycline (LOD<100µg/ml). But all laboratory tests demonstrated no cross-reactivity with respect to the following molecules at 100µg/mL: Proguanil, Mefloquine, Minocycline, Chlorotetracycline and Tetracycline.

Limitations of the kit

This test is only qualitative and cannot measure accurately the concentration of Doxycycline in urine samples.

The test strips cannot determine whether effective protection levels against malaria have been obtained.

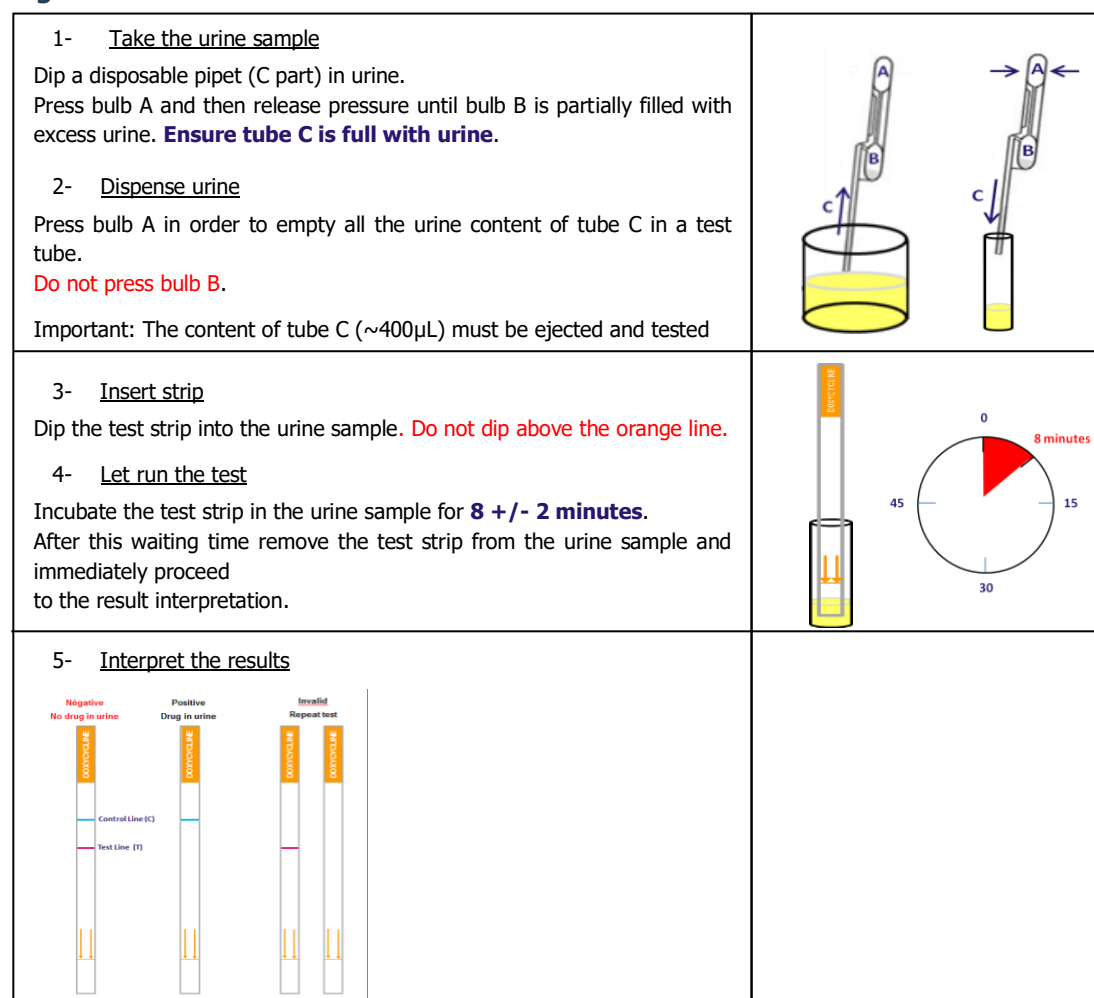
They can only confirm antimalarial drug intake within the limit of detection.

Technical problems / Complaints

If you encounter a technical problem or if results do not correspond to those indicated in the instructions:

- Note the batch number of the incriminated kit.
- If possible, store the problematic test strip at room temperature, and urine sample at -20°C (-4°F)
- Contact BIOTEM (info@biotem.fr) or your local distributor

Figure 1



Produced by: BIOTEM

Parc d'activité Bièvre Dauphine – 885 rue Alphonse Gourju - 38140 APPRIEU - FRANCE

Tel : +33(0)4 76 65 10 91 / Fax : +33(0)4 76 67 48 86

info@biotem.fr

