

## **HCV BLOT 3.0 TEST PAR WESTERN BLOT**



DATE DE RÉVISION: 2016-05

(trousse de 18 tests) : 11130-018 (trousse de 36 tests) : 11130-036 REF

### NOM ET APPLICATIONS

Le test HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics est un test enzymatique qualitatif destiné à la détection in vitro des anticorps anti-VHC dans le sérum ou le plasma humain. Il est prévu pour être utilisé comme test complémentaire plus spécifique sur les prélèvements montrant une réaction positive reproductible à des tests particuliers de type ELISA.

#### INTRODUCTION

Il a été montré que le VHC constituait la principale cause d'hépatite non-A non-B (NANB) à transmission parentérale. Des tests de dépistage pour le diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite C sont aujourd'hui généralement disponibles. Ces tests de dépistage recourent habituellement à des antigènes issus de la région structurelle (capside) ainsi qu'à un ou plusieurs antigènes spécifiques issus de régions non structurelles du virus (NS3, NS4, NS5). Les échantillons montrant une réaction positive reproductible aux tests de dépistage doivent être soumis à des tests complémentaires plus spécifiques afin de confirmer leur séropositivité au VHC car des faux-positifs peuvent être obtenus avec les tests de dépistage HCV ELISA actuels.

Ces tests complémentaires de confirmation doivent comprendre des antigènes viraux individuels ainsi que les contrôles négatifs appropriés. Le test HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics comprend des antigènes des régions structurelles et non structurelles du VHC et est prévu pour être utilisé comme test complémentaire de confirmation de la présence d'anticorps

16. Veiller à ce que les bandelettes de test soient disposées

17. Pour le test de Western Blot, il est important d'utilise

18. Avant utilisation, vérifier que les équipements automatisés,

19. Veiller à ce que l'ajout des échantillons se fasse à

20. Éviter de conserver les réactifs et les échantillons dans

Stocker la trousse de test HCV BLOT 3.0 de MP

Diagnostics et ses composants entre 2°C et 8°C hors

Lorsqu'ils sont conservés entre 2°C et 8°C, tous les réactifs

et toutes les bandelettes restent stables jusqu'à la date

de péremption indiquée sur la trousse. Ne pas congeler

Éviter toute exposition inutile des bandelettes à

Les réactifs doivent être conservés dans les flacons ou

bouteilles d'origine, dont le bouchon doit être en place.

Verser tous les réactifs encore froids et les replacer

entre 2°C et 8°C pour conservation dès que possible

Un précipité peut se former lorsque le substrat est

conservé entre 2°C et 8°C. Ceci n'a aucune incidence

ATTENTION: Éviter toute exposition inutile du substrat

Des échantillons de sérum, de plasma d'EDTA ou de plasma

de citrate peuvent être employés. Des échantillons de plasma

d'héparine de préférence ne devraient pas être employés

pendant qu'ils peuvent causer une réaction non spécifique à

Avant de les stocker, vérifier que les caillots sanquins ou les

Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 8°C si le test

est pratiqué dans les 7 jours suivant le prélèvement et congelés à -20°C ou température inférieure si le test est pratiqué après

plus de 7 jours. Il est préférable d'utiliser des prélèvements

clairs, non hémolysés. Les échantillons lipémiques, ictériques

ou contaminés (par des particules ou des bactéries) doivent

Les prélèvements peuvent être inactivés, mais cela n'est pas

cellules sanguines ont été séparés par centrifugation

être filtrés (0,45 µm) ou centrifugés avant le test

indispensable au fonctionnement optimal du test.

COLLECTE, TRANSPORT ET CONSERVATION DES

distance des bandelettes. La plaque peut être inclinée et l'échantillon être ajouté à l'emplacement de collecte du

tampon, à l'extrémité inférieure. Ceci permet d'éviter la

formation de points sombres liée au dépôt de l'échantillon

à 16 cycles par minute et de 5 à 10 degrés.

soient dirigés vers le haut.

s'ils sont utilisés, sont validés

un congélateur auto-dégivrant.

périodes d'utilisation.

A. Bandelettes à antigènes

la bande de Core de HCV.

antigènes à la lumière.

sur le fonctionnement la trousse.

CONSERVATION

les réactifs.

de facon à ce que les numéros inscrits sur les bandelettes

un agitateur à bascule et non un agitateur rotatif. Dans le cas contraire, le bon fonctionnement de la trousse

serait compromis. La vitesse et l'angle d'inclinaisor

recommandés pour l'agitateur sont respectivement de 12

#### DESCRIPTION DES SYMBOLES UTILISÉS

Il s'agit des symboles graphiques utilisés sur les produits et emballages des produits diagnostiques de MP Diagnostics. Ce sont les symboles apparaissant le plus fréquemment sur les équipements médicaux et sur leurs emballages. Certains des symboles courants sont expliqués plus en détail dans la norme européenne et internationale EN ISO 15223: 2012.

Utiliser avant Date de péremption Code du lot de fabrication

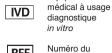
Numéro de lot de

Svnonvmes

fabrication

Limites de

REF Numéro de lot



Équipement

agréé dans la

Communauté

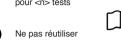
catalogue Voir les instructions

d'utilisation

Représentant

température EC REP

Contenance suffisante pour <n> tests



Consulter les [] instructions

#### PRINCIPES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DU TEST

Les bandelettes de nitrocellulose contiennent quatre protéines de VHC recombinantes issues de la capside et des régions NS3, NS4 et NS5 du génome du VHC. Les protéines du VHC sont exprimées sous la forme de protéines de fusion GST, aussi une bande de contrôle GST est-elle incluse afin de montrer la réaction positive à la GST native. Les tests comportent également une bande de contrôle IgG et une bande anti-IgG. Les bandelettes de nitrocellulose sont mises à incuber avec les prélèvements plasmatiques ou sériques dilués et les contrôles. Les anticorps anti-VHC spécifiques, s'ils sont présents dans le prélèvement, se lient alors aux protéines VHC des bandelettes. Les bandelettes sont lavées afin d'éliminer les substances non liées, puis mises à incuber avec de l'anti-lgG humaine purifié par affinité et conjugué à de la phosphatase alcaline. L'anticorps conjugué se fixera sur tout complexe antigène-anticorps formé par les tests. Le conjugué non lié est éliminé par lavage. Un substrat à base de BCIP/NBT est ajouté afin de permettre de visualiser les bandes de protéines positives des tests.

Pour les inactiver, procéder comme suit:

- Retirer le couvercle du récipient contenant les prélèvements. 2. Chauffer le prélèvement à 56°C pendant 30 minutes au
- 3. Laisser refroidir le prélèvement avant de refermer les
- 4. Le prélèvement peut être congelé pour être conservé jusqu'à

Il est déconseillé de soumettre le prélèvement à des cycles

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE NÉCESSAIRE NON

### FOURNI AVEC LA TROUSSE

- Eau désionisée ou distillée
- Plateau à bascule (offrant une vitesse de basculement allant de 12 à 16 oscillations par minute et un angle d'inclinaison de 5 à 10 degrés afin de permettre un lavage homogène des membranes)
- Pipetteurs et embouts de contenance appropriée Aspirateur avec collecteur à l'hypochlorite de sodium
- Bain-marie à 56°C (facultatif)
- Hypochlorite de sodium pour la décontamination

## PRÉPARATION DES RÉACTIFS

### 1. TAMPON DE LAVAGE DILUÉ

- (a) Le TAMPON DE LAVAGE DILUÉ doit être préparé juste avant utilisation.
- (b) Diluer 1 volume de TAMPON CONCENTRÉ DE LAVAGE (20X) dans 19 volumes d'eau de qualité réactif. Bien mélanger.

### 2. TAMPON DE BLOTTING

- (a) Le TAMPON DE BLOTTING doit être préparé juste
- (b) Diluer 1 volume de TAMPON CONCENTRÉ DE STOCKAGE (10X) dans 9 volumes d'eau de qualité réactif. Bien mélanger.
- (c) Ajouter 1 g de POUDRE DE BLOTTING pour chaque volume de 20 ml de TAMPON DE STOCKAGE dilué préparé à l'étape 2(b) ci-dessus. Mélanger afin de garantir la dissolution totale de la poudre.
- (d) Mélanger à nouveau avant de verser

#### 3. SOLUTION DE CONJUGUÉ DE TRAVAIL Remarque: Préparer la solution dans un bécher / récipient

- en polypropylène. (a) La SOLUTION DE CONJUGUÉ DE TRAVAIL doit être
- préparée juste avant utilisation. (b) Préparer la SOLUTION DE CONJUGUÉ DE TRAVAIL
- en diluant le CONJUGUÉ à 1/1000 dans le TAMPON DE BLOTTING (par exemple, 5 μl de CONJUGUÉ dans 5 ml de TAMPON DE BLOTTING.

### 4. SOLUTION DE SUBSTRAT (prête à l'emploi)

(a) Verser directement le volume nécessaire depuis la

Utiliser une pipette propre. Reboucher fermement après utilisation.

### PROCÉDURE

Remarque: a) Aspirer tous les produits chimiques et réactifs utilisés dans un collecteur contenant de

> b) Toutes les incubations doivent être effectuées sur un plateau à bascule.

ÉLÉMENTS DE LA TROUSSE

ANTIGEN STRIPS BANDELETTES DE

Description du contenu

NITROCELLULOSE

Comportant des antigènes recombinants issus des

régions structurelles et

non structurelles du VHC. Deux bandes de commande

d'addition de sérum (IgG anti-humain et IgG humain)

Conserver au sec et à l'abri

Sérum humain normal inactivé non-réactif pour l'antigène

extérieur de l'hépatite B (HBsAg), les anticorps à

HIV-1. le HIV-2 et le HCV

Contient de l'azide de sodium

et du thiomersal comme

Sérum humain inactivé à fort titrage en anticorps anti-VIH-1

et anti-VIH-2 et non-réactif à l'AgHBs et à l'anti-VHC.

Contient de l'azide de sodium

et du thiomersal comme

TAMPON CONCENTRÉ DE

sérum normal de chèvre inactivé par chauffage

Contient du thiomersal comme

LAVAGE (20x)
Tampon Tris contenant

du Tween 20. Contient

du thiomersal comme

Anti-IgG humain de chèvre

conjugué à de la phosphatase

alcaline. Contient de l'azide de

Solution de 5-bromo-4-chloro-

3-indolyl phosphate (BCIP) et

de nitrobleu de tétrazolium

POUDRE DE BLOTTING

Lait écrémé déshydraté

Plaques d'incubation\*

Remarque : Le volume de réactifs fourni permet de réaliser 4

\* Barquettes d'incubation fournies dans un emballage séparé

Mode d'emploi

CONTRÔLE POSITIF

conservateurs.

conservateur.

BUF WASH 20x T TAMPON CONCENTRÉ DE

conservateur

CONJUGUÉ

SUBSTRAT

STOCKAGE (10x)

BUF STOCK 10x

CONJUGATE

SUBS BCIP / NBT

POWDER BLOTTING

CONTRÔLE NÉGATIF

Quantité

Disponible

1 flacon

1 flacon

1 bouteille

1 bouteille

(70 ml)

1 flacon

 $(120 \mu l)$ 

1 bouteille

10 sachets

(1 g chacun)

1 exemplaire

1 paire

2 ml

2 ml

60 minutes

(100 ml)

 $(80 \mu l)$ 

 $(80 \mu l)$ 

par 18 ou 36

Certains échantillons entraînent l'apparition de marques sombres à l'endroit où ils sont déposés sur la bandelette. Pour éviter ce problème, procédez comme suit :-

- L'échantillon ne doit être déposé qu'une fois le TAMPON DE BLOTTING ajouté.
- ii. Incliner légèrement la plaque en soulevant l'extrémité supérieure ou inférieure. Le tampon de blotting s'écoule alors jusqu'à l'extrémité inférieure de la plaque. Déposer l'échantillon à l'emplacement où le tampon de blotting est recueilli. Une fois tous les échantillons déposés, remettre la plaque à plat. Veiller à ce que les bandelettes restent humides en permanence au cours de l'opération
- iii. Si l'utilisateur ne souhaite pas incliner la plaque, il lui est également possible de déposer les échantillons à l'extrémité supérieure ou inférieure du puits. Ainsi, l'apparition éventuelle de marques sombres n'empêcherait pas la lecture des résultats sur la bandelette

### Marche à suivre :

- 1. À l'aide de pinces, extraire avec précaution le nombre nécessaire de BANDELETTES du tube et les disposer, face numérotée vers le haut, dans chaque puits. Placer également les bandelettes nécessaires aux contrôles positifs et négatifs.
- 2. Ajouter 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUÉ dans chaque puits.

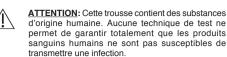
minute). Éliminer le tampon par aspiration

- 3. Incuber les bandelettes pendant au moins 1-2 minutes à température ambiante (25 ± 3°C) sur un plateau à bascule vitesse de 12 à 16 oscillations par
- 4. Aiouter 2 ml de TAMPON DE BLOTTING dans chaque puits
- 5. Ajouter 20 µl de sérum du patient, 20 ul ou autant de contrôle, dans les puits appropriés. Veiller à ne pas déposer les prélèvements directement sur les
- 6. Recouvrir la plaque avec le couvre-plaque fourni et incuber pendant 1 heure à température ambiante (25 ± 3°C) sur le
- 7. Retirer le couvre-plaque avec précaution de façon à éviter d'éclabousser ou de mélanger les échantillons. Incliner la plaque pour aspirer le mélange des puits. Changer l'embout de l'aspirateur à chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée.
- 8. Laver chaque bandelette à 3 reprises avec 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUÉ en laissant tremper pendant <u>5</u> minutes sur le plateau à bascule entre chaque lavage.

#### PRÉCAUTIONS D'UTILISATION

- Utilisation réservée au diagnostic in vitro.
- Utilisation réservée aux professionnels. Consulter l'emballage du produit pour connaître les composants susceptibles de présenter un risque

#### INFORMATIONS RELATIVES À LA SÉCURITÉ ET LA SANTÉ



MANIPULER LES PRÉLÈVEMENTS DE TEST ET LES CONTRÔLES POSITIFS ET NÉGATIFS COMME L'EXIGENT LES AGENTS POTENTIELLEMENT INFECTIEUX. II est recommandé de manipuler les composants et les spécimens à analyser conformément aux Bonnes Pratiques de Laboratoire. Ils doivent également être éliminés dans le respect des règles de sécurité en vigueur.

Le Contrôle Positif et le Contrôle Négatif contiennent du thiomersal et de l'azide de sodium tandis que le tampon concentré de stockage et le tampon concentré de lavage contiennent du thiomersal et le conjugué, de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir au contact du cuivre et du plomb présents dans certaines tuyauteries et former des sels explosifs. Les quantités utilisées dans cette trousse sont limitées. Toutefois, lors de leur élimination, les substances contenant des azides doivent être rincées abondamment afir d'éviter la formation d'azides métallisés dans les tuyauteries

Conformément à la directive CE 1272/2008 (CLP), les composants dangereux sont classés et étiquetés comme suit:

Randelettes de

| Composant:                | nitrocellulose   |
|---------------------------|--|
| Terme d'avertissement:    | Danger   |
| Pictogramme:              | <b>(b)</b>   |
| Mentions de danger:       | H228 Matière solide inflammable.   |
| Mentions de précautions:  | P210 Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. — Ne pas fumer. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. |
| Mentions supplémentaires: | Fiche de données de<br>sécurité EUH210 disponible<br>sur demande.  |
| Contient:                 | Nitrocellulose 100 %   |
| Composant:                | TAMPON CONCENTRÉ DE<br>STOCKAGE (10x)<br>TAMPON CONCENTRÉ DE<br>LAVAGE (20x)   |
| Terme d'avertissement:    | Avertissement  |
| Pictogramme:              | <b>\$</b>  |

### 9. Ajouter 2 ml de SOLUTION DE CONJUGUÉ DE TRAVAIL dans chaque

10. Couvrir la plaque et incuber pendant 1

- <u>heure</u> à température ambiante ( $25 \pm 3$ °C) sur le plateau à bascule
- 11. Aspirer le CONJUGUÉ dans les puits. 3 x 2 ml Laver comme indiqué à l'étape 8
- 12. Ajouter 2 ml de SOLUTION DE SUBSTRAT dans chaque puits
- 15 minutes sur le plateau à bascule 14. Aspirer le SUBSTRAT et rincer les

13. Couvrir la plaque et incuber pendant

- indelettes à au moins trois reprises à l'aide d'eau de qualité réactif afin d'arrêter la réaction. (Une coloration de fond sombre peut apparaître si le lavage est insuffisant à cette étape.)
- 15. À l'aide de pinces, placer délicatement les bandelettes sur du papier absorbant. Couvrir avec le papier absorbant et sécher. Il est également possible de laisser les bandelettes sécher dans les cupules de la plaque.
- 16. Fixer les bandelettes sur une feuille de résultats (papier blanc non absorbant). Ne pas appliquer de ruban adhésif au niveau des bandelettes révélées. Examiner les bandelettes (voir l'interprétation des résultats) et reporter les résultats. Pou les stocker, maintenir les bandelettes dans l'obscurité.

| Réactifs                      | Qté      | Durée     |
|-------------------------------|----------|-----------|
| Bandelette de nitrocellulose  | 1        | -         |
| Tampon de lavage              | 2 ml     | 2 min     |
| Tampon de blotting            | 2 ml     | -         |
| Prélèvement                   | 20 μΙ    | 60 min    |
| Tampon de lavage              | 3 x 2 ml | 3 x 5 min |
| Conjugué                      | 2 ml     | 60 min    |
| Tampon de lavage              | 3 x 2 ml | 3 x 5 min |
| Substrat<br>(prêt à l'emploi) | 2 ml     | 15 min    |
| Eau distillée                 | 3 x 2 ml | -         |

| QUANTITE<br>SELON LE          |    |      |       |       |       | _      |      |
|-------------------------------|----|------|-------|-------|-------|--------|------|
| Réactifs                      | NO | MBRE | DE BA | NDELI | ETTES | UTILIS | SÉES |
|                               | 3  | 6    | 9     | 15    | 20    | 27     | 36   |
| Tampon de lavage<br>1X (ml)   | 60 | 100  | 140   | 240   | 300   | 400    | 520  |
| Tampon de blotting<br>1X (ml) | 20 | 40   | 60    | 80    | 100   | 120    | 160  |
| Conjugué (µI)                 | 11 | 17   | 23    | 35    | 45    | 59     | 77   |
| Substrat (ml)                 | 11 | 17   | 23    | 35    | 45    | 59     | 77   |
| Poudre de blotting (g)        | 1  | 2    | 3     | 4     | 5     | 6      | 8    |
|                               |    |      |       |       |       |        |      |

| Mentions de danger:       | H373 Risque présumé<br>d'effets graves pour les<br>organes à la suite<br>d'expositions répétées ou<br>d'une exposition prolongée  |
|---------------------------|---|
| Mentions de précautions:  | P260 Ne pas respirer les poussières/fumées/gaz/ brouillards/vapeurs/aérosols. P501 Éliminer le contenu/ récipient conformément à la réglementation locale/ régionale/nationale/ internationale. |
| Mentions supplémentaires: | Fiche de données de<br>sécurité EUH210 disponible<br>sur demande  |
| Contient:                 | Thimerosal 0,1 %  |
|                           |   |

- Éviter toute contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons ou bouteilles et de l'extraction
- 2. Ne pas pipeter à la bouche
- Manipuler les prélèvements de test, les bandelettes de nitrocellulose et les contrôles positifs et négatifs conformément aux précautions à prendre avec les agents potentiellement infectieux
- 4 Porter une blouse de laboratoire et des gants ietables pendant le déroulement du test. Jeter les gants dans des sacs poubelle destinés aux matériaux présentant un risque biologique. Se laver abondamment les mains par la suite
- 5. Il est fortement recommandé de procéder à ce test dans un local prévu pour les opérations à risque biologique.
- 6. Ne pas placer d'aliments et de boissons à proximité des
- En cas d'accident ou de contact avec les yeux, rincer immédiatement à grande eau et consulter un médecin.
- Consulter immédiatement un médecin en cas d'ingestion de substances contaminées ou de mise en contact avec des plaies ouvertes ou autres lésions cutanées.
- 9 Essuver immédiatement les éclaboussures de substances potentiellement infectieuses à l'aide de papier absorbant et nettover la zone contaminée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 1 % avant de reprendre le travail. L'hypochlorite de sodium ne peut être utilisé sur les éclaboussures contenant de l'acide que si la zone a préalablement été essuvée et séchée à l'aide de papier absorbant. Le matériel utilisé (y compris les gants jetables) doit être éliminé comme les matériaux susceptibles de présenter un risque biologique. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium
- 10. Autoclaver tous les matériaux utilisés et contaminés à 121°C (15 p.s.i.) pendant 30 minutes avant de les éliminer. Il est également possible de décontaminer les matériaux dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 30 à 60 minutes avant de les éliminer dans des sacs poubelle pour produits à risque biologique.
- 11. Décontaminer tous les produits chimiques et réactifs utilisés en y ajoutant le volume d'hypochlorite de sodium nécessaire pour arriver à une concentration finale d'au moins 1 %. Laisser en contact pendant 30 minutes pour garantir le succès de la décontamination

### 12. Il est déconseillé de réutiliser les plaques d'incubation

#### PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

- Des échantillons de sérum, de plasma d'EDTA ou de plasma de citrate peuvent être employés. Des échantillons de plasma d'héparine ne doivent pas être employés car pouvant causer des réactions non spécifiques à la bande de noyau de HCV.
- Le fonctionnement optimal du test n'est possible que dans le RESPECT ABSOLU du mode opératoire décrit dans peut entraîner l'obtention de résultats aberrants.
- NE PAS MODIFIER OU ÉCHANGER DES RÉACTIFS DE TROUSSES DIFFÉRENTES. L'assemblage des contrôles, conjugué et bandelettes de Western Blot est étudié pour un fonctionnement optimal. Utiliser uniquement les réactifs fournis avec la trousse.
- Ne pas utiliser les composants de la trousse au-delà de la date de péremption figurant sur l'emballage de la trousse.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons ou bouteilles et de prélèvements de produit. Une contamination réduirait la durée de conservation des trousses et entraînerait l'obtention de résultats erronés. Utiliser des procédés aseptiques, notamment les pipettes ou les embouts jetables de pipette. lors de prélèvements dans les flacons
- Les contrôles de la trousse doivent être testés en même temps que les échantillons des patients à chaque cycle
- Afin d'éviter toute contamination croisée, utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque nouvel échantillon.
- encore froids et les replacer le plus rapidement possible entre 2°C to 8°C pour conservation. Il est recommandé de nettoyer la verrerie utilisée avec

Pour obtenir des résultats optimaux, verser les réactifs

- les réactifs à l'aide d'acide chlorhydrique à 2 M et de la rincer abondamment à l'eau distillée ou désionisée avant
- Utiliser exclusivement de l'eau désionisée ou distillée de qualité réactif pour diluer les réactifs. 11. Tous les réactifs doivent être convenablement mélangés
- 12. La solution de conjugué de travail, le tampon de lavage dilué et le tampon de blotting doivent être préparés
- La solution de conjugué de travail doit être préparée à l'aide d'un bécher ou d'un récipient en polypropylène
- 14. Ne pas manipuler les réactifs dans une zone contenant un niveau élevé de vapeurs désinfectantes chimiques (par exemple, les vapeurs d'hypochlorite) au cours de leur conservation ou de l'incubation, et ne pas effectuer le test dans une telle zone. La mise en contact inhibe la réaction de coloration. Ne pas exposer non plus les réactifs à une forte luminosité.
- 15. Il est préférable d'effectuer le test à température ambiante (25°C ± 3°C).

## **CONTRÔLE DE QUALITÉ**

2 ml

2 ml

15 minutes

3 x 2 ml

60 minutes

Les contrôles négatifs et positifs doivent être effectués pou chaque test. Pour que les résultats obtenus à l'issue d'un test soient valables, les conditions suivantes doivent être remplies

1. BANDES DE CONTRÔLE (CONTRÔLE anti-IgG et IgG) Les deux bandes de contrôle (anti-IgG et IgG, voir le diagramme ci-dessous) doivent montrer une réaction positive différentielle sur tous les tests. La présence de la bande anti-IgG indique que le sérum a été ajouté lors de l'étape d'incubation initiale. L'absence de la bande de contrôle anti-IgG et la présence de la bande IgG sur un test signale que le sérum du patient n'a pas été ajouté. Si aucune bande n'apparaît sur la totalité du test, même au niveau des contrôles, il est possible que la manipulation ait été incorrecte ou que l'un des réactifs de la trousse soit

### 2. CONTROLE NÉGATIF

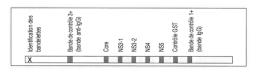
Seules les bandes de contrôle IgG et anti-IgG doivent réagir positivement sur la bandelette négative. (Fig. 1c)

### 3. CONTRÔLE POSITIF

Toutes les bandes de protéines VHC recombinantes doivent réagir positivement avec le sérum de contrôle positif. Les bandes de contrôle anti-IgG et IgG doivent également réagir positivement. La bande de contrôle GST doit réagir négativement. (Fig. 1b).

### INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Le diagramme suivant représente les antigènes et contrôles recouvrant le HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics.



Localiser et identifier le niveau d'intensité des bandes de contrôle. La bande d'intensité 3+ est la bande anti-IgG et la bande d'intensité 1+ est la bande de contrôle lgG. Celles-ci doivent être visibles sur toutes les bandelettes. Ces deux bandes servent de référence pour définir l'intensité de toute autre bande positive par comparaison. La comparaison avec ces bandes permet d'attribuer un niveau de réactivité à chaque antigène de la bandelette.

| PROFIL DE L'ÉCHANTILLON                    | INTERPRÉTATION |
|--|----------------|
| 1) Réactivité nulle                        | -              |
| 2) Réactivité < contrôle 1+                | ±              |
| <ol><li>Réactivité = contrôle 1+</li></ol> | 1+             |
| 4) Réactivité > contrôle 1+ et             | 2+             |
| < contrôle 3+                              |                |
| <ol><li>Réactivité = contrôle 3+</li></ol> | 3+             |
| 6) Réactivité > contrôle 3+                | 4+             |

| PROFIL DU TEST   | INTERPRÉTATION |
|--|----------------|
| Aucune bande de réactivité<br>1+ ou supérieure   | NÉGATIF        |
| Bandes VHC de réactivité<br>1+ ou supérieure à 2<br>antigènes VHC<br>OU<br>réactivité 2 ou supérieure à<br>la bande nucléo-capsidique<br>uniquement. | POSITIF        |
| Toute bande VHC de<br>réactivité 1+ ou supérieure<br>mais le profil ne remplit pas<br>les critères d'un résultat<br>POSITIF                          | INDÉTERMINÉ    |

La réactivité isolée de la bande de contrôle GST est considérée comme indiquant un résultat NÉGATIF.

La réactivité 1+ ou supérieure de la bande de contrôle GST avec réactivité 1+ ou supérieure pour un ou plusieurs antigènes VHC est considérée comme indiquant un résultat INDÉTERMINÉ.

Un échantillon apparu négatif lors d'un test de dépistage ou de confirmation du VHC d'un autre fabricant peut donner un résultat positif avec le test HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics en raison de la présence d'épitopes uniques dans ce test de

#### CARACTÉRISTIQUES DE FONCTIONNEMENT **SPÉCIFIQUES**

L'exécution de la tache HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics pour la détection des anticorps à HCV a été évaluée en examinant des échantillons provenant des donateurs de sang, des patients avec de l'anticorps connu à HCV, des patients présentant les maladies liées à HCV et des patients présentant les maladies indépendantes à HCV. En outre, elle a été examinée sur les panneaux disponibles dans le commerce de séroconversion

### Sensibilité

330 échantillons réactifs d'anti-HCV ELISA dont ont été étudiés, 329 échantillons ont été détectés en tant que réactif par la tache HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics. L'un résultat négatif a été confirmé comme positif faux d'ELISA. La sensibilité a été calculée en tant que > 99.9%.

La sensibilité a été également évaluée en utilisant 14 panneau commerciaux de séroconversion et 4 bas ou mélangés panneaux disponibles dans le commerce de titre. L'exécution de la tache HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics était comparable à celle de Chiron HCV RIBA 3.0.

En outre, la tache HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics pouvait détecter les échantillons de génotype de HCV (génotype 1a à 6) dans le panneau de génotype de BBI HCV (PHW 201).

### Un total de 200 échantillons de donateur de sang ont été

examinés. 193 échantillons étaient négatifs, alors que 7 échantillons donnaient un résultat indéterminé. En outre, un total de 280 spécimens cliniques des infections virales et bactériennes aiguës, prénatal, lipemic, ictérique et haemolyzed des échantillons ont été examinés. La tache HCV BLOT 3.0 de MP Diagnostics a montré la spécificité élevée sur ces

#### LIMITES DE LA MÉTHODE

Le fonctionnement optimal du test n'est possible que dans le respect absolu du mode opératoire décrit. Le non-respect de ce mode opératoire peut entraîner l'obtention de résultats

L'obtention d'un résultat **NÉGATIF** ne permet pas d'exclure la possibilité d'une exposition au VHC ou d'une infection par ce virus. Les résultats **INDÉTERMINÉS** ne doivent pas être utilisés comme base pour le diagnostic d'une infection par le VHC. La réactivité ≥1+ à un antigène VHC unique peut constituer une réactivité non spécifique, indiquer une infection passée soignée ou indiquer un début de séroconversion.

Nous recommandons de renouveler le test sur un nouveau prélèvement deux à six mois plus tard.

Les sérums INDÉTERMINÉS peuvent être testés par ACP afin de déterminer plus précisément si un sujet a été exposé au VHC ou infecté par ce virus.

### LIMITES DE GARANTIE

Le fabricant ne garantit la trousse d'analyse que pour un us-age diagnostique *in vitro* sous réserve que soient respectées les spécifications et limites décrites dans le Mode d'emploi du produit et que celui-ci soit utilisé conformément aux présentes instructions. Le fabricant décline toute responsabilité, explicite ou implicite, y compris celle, implicite ou explicite, liée à la qualité marchande, l'aptitude à l'emploi ou l'adéquation implicite à une autre fin particulière. Le fabricant ne peut s'engager que sur un remplacement ou un remboursement du produit. Le fabricant ne peut être tenu responsable par l'acheteur ou toute autre partie d'aucune détérioration, blessure ou perte financière résultant de l'utilisation du produit.

#### PROBLÈMES TECHNIQUES / RÉCLAMATIONS

Dans l'éventualité d'un problème technique / d'une réclamation, procéder comme suit :

- Noter le numéro de lot de la trousse, la date de péremption et le numéro de lot de la bandelette.
- Conserver les trousses et les résultats obtenus.
   Contacter le bureau MP Biomedicals le plus proche ou votre distributeur local.

#### **BIBLIOGRAPHIE**

- 1. Choo Q-L., et al. 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. Science; 244: 359-62.
- Kuo G., et al. 1989. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human Non-A, Non-B hepatitis. Science; 244: 362-364.
- 3. Kleinman S., Alter H., Busch M., et al. 1993. Increased detection of hepatitis C virus infected blood donors by a multiple antigen HCV enzyme immunoassay. Transfusion; 32: 805-813.
- 4. Van der Poel C. L. Reesink H., W., Schaasberg W. et al. 1990. Infectivity of blood seropositives for hepatitis C virus antibodies. Lancet; 335:558-560.
- Colombo M., Kuo G., Choo Q-L., et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with
- 6. Bruix J., Barrera J., Calvert X. et al. 1989. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrhosis, Lancet; 2: 1004-6.

heptocellular carcinoma, Lancet; 2: 1006-8.

# MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.

2 Pioneer Place Singapour 627885 Téléphone : + 65 6775 0008 Télécopie : + 65 6774 6146 Courriel : enquiry\_ap@mpbio.com



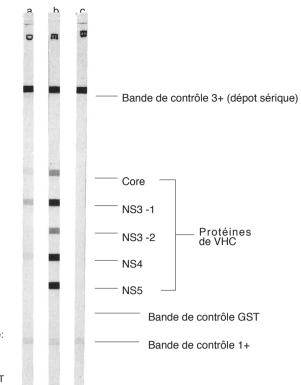
MP Biomedicals Germany GmbH Thüringer Straße 15 37269 Eschwege Allemagne Téléphone : +49 5651 921 204 Télécopie : +49 5651 921 181 Courriel : diagnostics@mpbio.com

#### Bureaux régionaux :

#### MP Biomedicals Germany GmbH

Thüringer Straße 15 37269 Eschwege Allemagne Téléphone : +49 5651 921 204 Télécopie : +49 5651 921 181 Courriel : diagnostics@mpbio.com

### FIGURE 1



Bande spécifique au virus visualisée à l'aide de:

- a. Sérum positif faible
- Contrôl positif fort
- Contrôl négatif
- (Remarque: Cette position de la bande GST est indiquée mais la bande elle-même n'est pas visible car ces sérums ne sont pas reactifs à la GST.)

11