



## HIV-1 BLOT 1.3 TEST DE WESTERN BLOT Instructions d’Utilisation

CE

0123

DATE DE RÉVISION: 2016-05
Remarque: Modifications en Surbrillance
MAJ0011-FRA-3

REF (trousse de 18 tests) : 11010-018 (trousse de 36 tests) : 11010-036 (trousse de 108 tests) : 11010-108

NOM ET USAGE
--------------

Le test MP Diagnostics HIV-1 Blot 1.3 est un test qualitatif basé sur une méthode immuno-enzymatique pour la détection in-vitro des anticorps dirigés contre le HIV-1 dans le plasma ou le sérum humain. Il s'agit d'un test complémentaire plus spécifique pour les échantillons de sérum et de plasma détectés positifs de manière répétitive avec les méthodes de screening telles que l'ELISA.

INTRODUCTION
--------------

Il existe de nombreux tests de screening pour détecter les anticorps dirigés contre le HIV-1, l'agent étiologique du Syndrome d’Immuno-Déficience Acquisée (SIDA). De tels tests peuvent être extrêmement sensibles mais présentent le risque de manquer de spécificité, et de conduire à une interprétation faussement positive. Des tests indépendants complémentaires de haute spécificité sont nécessaires pour confirmer la présence des anticorps dirigés contre le HIV-1.

MP Diagnostics HIV-1 Blot 1.3 est un test complémentaire plus spécifique pour les échantillons de plasma ou de sérum humain détectés positifs de manière répétitive avec les techniques ELISA. Les antigènes viraux spécifiques du HIV-1 incorporés séparément sur la bandelette par procédé d'électrophorèse et d'électrotransblot permettent de dresser le schéma des anticorps dirigés contre les différentes protéines virales. Chaque bandelette inclut également un contrôle interne d'addition d'échantillon pour minimiser le risque de faux négatif lié aux erreurs de manipulation et pour vérifier l'ajout de l'échantillon.

DESCRIPTION DES SYMBOLES UTILISÉS	
 Utiliser avant <i>Synonyme</i> <span> </span> : Date de validité	 Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>
 Numéro de lot	 N° catalogue
 Limite de température	 Attention
 Lieu de fabrication	 Représentant autorisé dans la communauté européenne
 Contient assez de réactif pour <math>n> tests	 Consulter la notice technique d'utilisation
 Ne pas réutiliser	
 Table des matières	
PRINCIPE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DU TEST	

COMPOSANTS DE LA TROUSSE		
<b>Description</b>	<b>Quantité</b>	<b>fournie</b>
<span><b>ANTIGEN STRIPS</b></span>		
<b>BANDELETTES DE NITROCELLULOSE</b> Imprimées d'un lysat viral de HIV-1 et d'une bande de contrôle d'addition d'échantillon. Garder au sec et à l'abri de la lumière	18 ou 36 bandelettes	108 bandelettes

- Éviter l'utilisation de réfrigérateurs auto-dégivrants pour le stockage des réactifs et des échantillons.
- Nous déconseillons l'utilisation d'échantillons dilués ou lyophilisés, car ils peuvent fausser les résultats. S'ils forment tout ou partie d'un panel de contrôle qualité (QC), ils doivent être validés.

STOCKAGE
----------

- Stocker la trousse MP Diagnostics HIV-1 BLOT 1.3 et ses composants entre 2 et 8°C quand ils ne sont pas utilisés.
  - Tous les réactifs ainsi que les bandelettes sont stables jusqu'à la date de validité indiquée sur la trousse, à condition d'être stockés entre 2°C et 8°C. Ne pas congeler les réactifs.
- A. **Bandelettes**
- Éviter l'exposition inutile des bandelettes à la lumière.
- B. **Réactifs**
- Stocker les réactifs dans leur flacon d'origine. Fermer les bouchons pendant le stockage.
  - Distribuer tous les réactifs quand ils sont encore froids et les replacer à 2-8°C dès que possible.
  - Un précipité peut se former quand le substrat est stocké entre 2°C et 8°C, sans affecter la performance de la trousse.

**ATTENTION :** Limiter l'exposition à la lumière du substrat au strict nécessaire.

RECUEIL DE L'ÉCHANTILLON, TRANSPORT, STOCKAGE
---

Les échantillons de sérum ou de plasma, recueillis sur EDTA, héparine ou citrate de sodium peuvent être utilisés. Avant le stockage des tubes, s'assurer que le caillot ou les cellules ont été séparés par centrifugation.

Si le test n'est pas réalisé immédiatement, les échantillons peuvent être conservés entre 2°C et 8°C jusqu'à 7 jours ou congelés à -20°C pour une période plus longue. Il est préférable de disposer d'échantillons clairs et non hémolysés. Les échantillons lipémiques, icériques ou contaminés (par des particules ou des bactéries) doivent être filtrés (0,45µm) ou centrifugés avant leur analyse.

Les prélèvements peuvent être inactivés, mais cela n'est pas indispensable au fonctionnement optimal du test.

Pour les inactiver, procéder comme suit:

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

Il est déconseillé de soumettre le prélèvement à des cycles répétés de congélation-décongélation.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI
-------------------------------------

- Eau désionisée ou distillée
- Gants jetables
- Agitateur oscillant (avec une vitesse d'agitation entre 12 et 16 oscillations par minute et un angle d'inclinaison de 5° à 10° pour laver uniformément les bandelettes)
- Pipettes et cônes d'un volume approprié
- Station d'aspiration avec une trappe à l'hypochlorite de sodium
- Bain-marie à 56°C (en option)
- Hypochlorite de sodium pour la décontamination













PROCEDURE RAPIDE
------------------

**Note:** a) Il est possible d'utiliser soit la procédure rapide, soit la procédure de 18 heures pour réaliser les tests. Les bandes HIV sont plus visibles et davantage de bandes peuvent apparaître avec la procédure de 18 heures, mais la performance globale des deux méthodes est la même.

- Aspirer tous les produits chimiques et réactifs utilisés dans un piège contenant de l'hypochlorite de sodium.
- Toutes les étapes d'incubation doivent se dérouler sur un plateau oscillant.

DESCRIPTION DES SYMBOLES UTILISÉS
-----------------------------------

Les symboles graphiques suivants sont utilisés sur l'emballage ou sur les produits de MP Diagnostics. Il s'agit des symboles les plus couramment utilisés sur les dispositifs médicaux et leurs emballages. Certains des symboles courants sont expliqués plus en détail dans la norme européenne et internationale EN ISO 15223: 2012.

 Utiliser avant <i>Synonyme</i> <span> </span> : Date de validité	 Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>
 Numéro de lot	 N° catalogue
 Limite de température	 Attention
 Lieu de fabrication	 Représentant autorisé dans la communauté européenne
 Contient assez de réactif pour <math>n> tests	 Consulter la notice technique d'utilisation
 Ne pas réutiliser	
 Table des matières	
PRINCIPE CHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DU TEST	

COMPOSANTS DE LA TROUSSE
--------------------------

Les bandelettes de nitrocellulose sont imprégnées séparément avec des protéines antigéniques provenant de HIV-1 inactivé partiellement purifié par technique d'absorption par électrophorèse. Les bandelettes de nitrocellulose sont incubées individuellement avec les échantillons dilués de sérum ou de plasma et les contrôles. Les anticorps spécifiques du HIV-1, s'ils sont présents dans l'échantillon, se fixent sur les protéines du HIV-1 présentes sur la bandelette. Les bandelettes sont ensuite lavées pour éliminer les substances non fixées. Les anticorps fixés spécifiquement aux protéines du HIV-1 sont visualisés grâce à une série de réactions avec des anticorps de chèvre anti-IgG humains conjugués à de la phosphatase alcaline et le substrat de BCIP/NBT. Cette méthode a une sensibilité suffisante pour détecter des concentrations très faibles d'anticorps spécifiques du HIV-1 dans le sérum et le plasma.

COMPOSANTS DE LA TROUSSE
--------------------------

<b>Description</b>	<b>Quantité</b>	<b>fournie</b>
<span><b>ANTIGEN STRIPS</b></span>		
<b>BANDELETTES DE NITROCELLULOSE</b> Imprimées d'un lysat viral de HIV-1 et d'une bande de contrôle d'addition d'échantillon. Garder au sec et à l'abri de la lumière	18 ou 36 bandelettes	108 bandelettes

PREPARATION DES REACTIFS
--------------------------

PROCEDURE RAPIDE
------------------

PROCEDURE RAPIDE
------------------

- TAMPON DE LAVAGE DILUE**
  - Le TAMPON DE LAVAGE DILUE doit être **préparé fraîchement avant son utilisation**.
  - Diluer un volume de CONCENTRE DE TAMPON DE LAVAGE (20x) avec 19 volumes d'eau ultra-pure. Agiter pour bien homogénéiser.
- TAMPON DE DILUTION**
  - Le TAMPON DE DILUTION doit être **préparé fraîchement avant son utilisation**.
  - Diluer 1 volume de TAMPON DE DILUTION CONCENTRE (10x) avec 9 volumes d'eau ultra-pure. Bien agiter.
  - Ajouter 1g de POUDRE ABSORBANTE pour 20 ml de TAMPON DE DILUTION préparé dans l'étape 2. (b) ci-dessus. Agiter pour dissoudre totalement la poudre. Agiter à nouveau avant de distribuer le tampon.
- SOLUTION DE CONJUGUE**
Note : préparer la solution dans un récipient en polypropylène.
  - La SOLUTION DE CONJUGUE doit être **préparée fraîchement avant son utilisation**.
  - MODE OPÉRATOIRE (PROCEDURE RAPIDE)**: Préparer la SOLUTION DE CONJUGUÉ en diluant le CONJUGUÉ à 1/500 dans le TAMPON DE DILUTION (par exemple, 10 µl de CONJUGUÉ dans 5 ml de TAMPON DE DILUTION.
  - MODE OPÉRATOIRE (PROCEDURE DE 18 HEURES)**: Préparer la SOLUTION DE CONJUGUÉ en diluant le CONJUGUÉ à 1/1000 dans le TAMPON DE DILUTION (par exemple, 5 µl de CONJUGUÉ dans 5 ml de TAMPON DE DILUTION.
- SOLUTION SUBSTRAT (prête à l'emploi)**
  - Distribuer directement le volume nécessaire à partir du flacon. Utiliser une pipette propre. Bien revisser le bouchon après usage.

QUANTITÉ DE RÉACTIF NÉCESSAIRE SELON LE NOMBRE DE BANDELETTES							
Réactifs	NOMBRE DE BANDELETTES UTILISÉES						
	3	6	9	15	20	27	36
Tampon de lavage dilué (ml)	60	100	140	240	300	400	600
Tampon de dilution (ml)	20	40	60	80	100	120	160
Poudre absorbante (g)	1	2	3	4	5	6	8
Solution de Conjugué (ml)	7	13	19	31	41	55	73
Conjugué (ml), Procédure Rapide	14	26	38	62	82	110	146
Conjugué (ml), Procédure de 18 heures	7	13	19	31	41	55	73
Solution Substrat (ml)	7	13	19	31	41	55	73

PROCEDURE RAPIDE
------------------

**Note:** a) Il est possible d'utiliser soit la procédure rapide, soit la procédure de 18 heures pour réaliser les tests. Les bandes HIV sont plus visibles et davantage de bandes peuvent apparaître avec la procédure de 18 heures, mais la performance globale des deux méthodes est la même.

- Aspirer tous les produits chimiques et réactifs utilisés dans un piège contenant de l'hypochlorite de sodium.
- Toutes les étapes d'incubation doivent se dérouler sur un plateau oscillant.

PROCEDURE DE 18 HEURES
------------------------

**CONTROLE NON REACTIF**
Sérum humain normal inactivé non réactif aux antigènes de surface de l'hépatite B (HBsAg), aux anti-HIV1/2 et anti-HCV. Contient de l'azide de sodium et du thimérosal comme conservateurs.

**CONTROLE FORTEMENT REACTIF**
Sérum humain inactivé contenant un fort titre d'anticorps anti-HIV-1. Non réactif aux anti-HCV et HBsAg. Contient de l'azide de sodium et du thimérosal comme conservateurs.

CONTROLE FAIBLEMENT REACTIF
-----------------------------

Sérum humain inactivé contenant un faible titre d'anticorps anti-HIV-1. Non réactif aux anti-HCV et HBsAg. Contient de l'azide de sodium et du thimérosal comme conservateurs.

TAMPON DE DILUTION CONCENTRE (10x)
------------------------------------

Tampon Tris contenant du sérum de chèvre normal inactivé à la chaleur. Contient du thimérosal comme conservateur.

TAMPON DE LAVAGE CONCENTRE (20x)
----------------------------------

Tampon Tris avec du Tween 20. Contient du thimérosal comme conservateur.

CONJUGATE
-----------

**CONJUGATE**
Anticorps de chèvre anti-IgG humains, conjugués à de la phosphatase alcaline.

SUBSTRAT
----------

**SUBSTRAT**
Solution de 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-phosphate (BCIP) et de nitrobleu de tétrazolum (NBT)

POUDRE ABSORBANTE
-------------------

Lait écrémé en poudre

Instructions d'Utilisation	1 ex.	1 ex.
----------------------------	-------	-------

Pince brucelles	1 paire	1 paire
-----------------	---------	---------

ATTENTION
-----------

Certains échantillons peuvent provoquer l'apparition d'une tâche sombre sur la bandelette à l'endroit où ils sont ajoutés. Pour l'éviter, il faut s'assurer des éléments suivants :

- L'échantillon ne doit être ajouté qu'après la distribution du TAMPON DE DILUTION.
- Pencher légèrement le plateau en soulevant une extrémité. Le tampon coulera vers la partie la plus basse du plateau. Ajouter l'échantillon à l'endroit où s'accumule le tampon. Une fois tous les échantillons distribués, remettre le plateau en position horizontale. S'assurer que les bandelettes restent humides pendant toute la durée de l'analyse.
- Pour éviter de devoir pencher le plateau, une autre possibilité consiste à ajouter les échantillons à l'une des extrémités du puits. De cette manière, même si une tâche sombre apparaît, la lecture des résultats n'en sera pas affectée.

**Procédure :**

- Distribuer 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUE dans chaque puits. **2 ml**
- En utilisant les pinces brucelles, sortir avec précaution du tube le nombre de BANDELETTES nécessaires. En placer une par puits, côté des numéros vers le haut. Inclure une bandelette pour chacun des contrôles, fortement réactif, faiblement réactif et négatif.
- Laisser incuber les bandelettes pendant 1 à 2 minutes à température ambiante (25°C ± 3°C) sur un plateau oscillant (vitesse 12 à 16 oscillations par minute). Aspirer le tampon. **2 minutes**
- Laisser incuber les bandelettes pendant 1 à 2 minutes à température ambiante (25°C ± 3°C) sur un plateau oscillant (vitesse 12 à 16 oscillations par minute). Aspirer le tampon. **2 minutes**
- Distribuer 2 ml de TAMPON DE DILUTION dans chaque puits. **2 ml**
- Distribuer 20 µl d'échantillon patient ou de contrôle dans les puits appropriés. Prendre soin de ne pas ajouter l'échantillon directement sur la bandelette. **20 µl**
- Couvrir le plateau d'incubation avec le couvercle fourni et laisser incuber pendant 1 heure à température ambiante (25°C ± 3°C) sur le plateau oscillant. **60 minutes**
- Enlever avec précaution le couvercle en évitant de provoquer des éclaboussures ou un mélange d'échantillons. Pencher le plateau pour aspirer le mélange liquide des puits. Changer d'embout à chaque échantillon pour éviter les contaminations croisées. **60 minutes**
- Laver chaque bandelette 3 fois avec 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUE en laissant un temps de trempage de 5 minutes sur le plateau oscillant entre chaque lavage. **3 x 2 ml**
- Distribuer 2 ml de SOLUTION DE CONJUGUE dans chaque puits. **2 ml**
- Couvrir le plateau et laisser incuber pendant 1 heure à température ambiante (25°C ± 3°C) sur le plateau oscillant. **60 minutes**
- Aspirer le CONJUGUE des puits. Procéder à un lavage comme décrit dans l'étape 8. **3 x 2 ml**

PRECAUTIONS
-------------

Note : les réactifs fournis permettent de réaliser 4 séries (18/36 tests) ou 12 séries (108 tests).

\* Barquettes d'incubation fournies dans un emballage séparé du kit.

PRECAUTIONS
-------------

- Pour usage de diagnostic *in-vitro* uniquement.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Se référer à l'étiquetage des réactifs pour l'information sur les dangers potentiels de certains composants.


INFORMATION POUR LA SANTE ET LA SECURITE

**ATTENTION :** Cette trousse contient des produits d'origine humaine. Aucune méthode de test ne peut absolument garantir l'innocuité des produits sanguins humains.

**MANIPULER LES ECHANTILLONS A TESTER ET LES CONTRÔLES NON REACTIF, FAIBLEMENT ET FORTEMENT REACTIFS COMME POTENTIELLEMENT INFECTES.** Il est recommandé de manipuler les réactifs et les échantillons en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures de sécurité établies.

Le *contrôle fortement réactif*, le *contrôle faiblement réactif* et le *contrôle non réactif* contiennent du thimérosal et de l'azide de sodium ; le *concentré de tampon de dilution* et le *concentré de tampon de lavage* contiennent du thimérosal ; le *conjugué* contient de l'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec le cuivre de certaines tuyauteries et former des sels explosifs. La méthode utilisée dans cette trousse est faible. Cependant, veiller à laisser couler une grande quantité d'eau dans l'évier au moment d'éliminer les réactifs comportant de l'azide de sodium pour éviter la formation de complexes azide-métal dans les canalisations.

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

Composant:	Bandelettes de nitrocellulose
Terme d'avertissement:	Danger
Pictogramme:	
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 sécurité EUH210 disponible sur demande.
Contient:	Nitrocellulose 100 <span> </span> %

PRECAUTIONS
-------------


PRECAUTIONS
-------------

- Distribuer 2 ml de SOLUTION SUBSTRAT à chaque puits. **2 ml**
- Couvrir le plateau et laisser incuber pendant 15 minutes sur le plateau oscillant. **15 minutes**
- Aspirer le CONJUGUE des puits. Procéder à un lavage comme décrit dans l'étape 8. **3 x 2 ml**
- Distribuer 2 ml de SOLUTION SUBSTRAT à chaque puits. **2 ml**
- Couvrir le plateau et laisser incuber pendant 15 minutes sur le plateau oscillant. Note : la réaction peut être stoppée avant les 15 minutes si toutes les bandes sont visibles. **3 x 2 ml**
- Aspirer le SUBSTRAT et rincer les bandelettes au moins trois fois avec de l'eau ultra-pure pour stopper la réaction. (Un lavage insuffisant à cette étape peut provoquer l'apparition d'un fond sombre).
- A l'aide de la pince brucelles, retirer délicatement les bandelettes et les déposer sur du papier absorbant. Recouvrir de papier absorbant et sécher. Il est également possible de laisser sécher les bandelettes sur les puits du plateau.
- Placer les bandelettes sur une feuille de papier (blanc et non absorbant). Ne pas mettre de rouleau adhésif sur les bandes développées. Observer les bandes (Voir l'interprétation des résultats) et qualifier les résultats. Stocker les bandelettes à l'obscurité.
- Distribuer 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUE dans chaque puits. **2 ml**
- En utilisant les pinces brucelles, sortir avec précaution du tube le nombre de BANDELETTES nécessaires. En placer une par puits, côté des numéros vers le haut. Inclure une bandelette pour chacun des contrôles, fortement réactif, faiblement réactif et négatif.
- Laisser incuber les bandelettes pendant 1 à 2 minutes à température ambiante (25°C ± 3°C) sur un plateau oscillant (vitesse 12 à 16 oscillations par minute). Aspirer le tampon. **2 minutes**
- Laisser incuber les bandelettes pendant 1 à 2 minutes à température ambiante (25°C ± 3°C) sur un plateau oscillant (vitesse 12 à 16 oscillations par minute). Aspirer le tampon. **2 minutes**
- Distribuer 2 ml de TAMPON DE DILUTION dans chaque puits. **2 ml**
- Distribuer 20 µl d'échantillon patient ou de contrôle dans les puits appropriés. Prendre soin de ne pas ajouter l'échantillon directement sur la bandelette. **20 µl**
- Couvrir le plateau d'incubation avec le couvercle fourni et laisser incuber pendant la nuit (16-20 heures) à température ambiante (25°C ± 3°C) sur le plateau oscillant. **nuit**

PROCEDURE DE 18 HEURES
------------------------

**Procédure :**

- Distribuer 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUE dans chaque puits. **2 ml**
- En utilisant les pinces brucelles, sortir avec précaution du tube le nombre de BANDELETTES nécessaires. En placer une par puits, côté des numéros vers le haut. Inclure une bandelette pour chacun des contrôles, fortement réactif, faiblement réactif et négatif.
- Laisser incuber les bandelettes pendant 1 à 2 minutes à température ambiante (25°C ± 3°C) sur un plateau oscillant (vitesse 12 à 16 oscillations par minute). Aspirer le tampon. **2 minutes**
- Distribuer 2 ml de TAMPON DE DILUTION dans chaque puits. **2 ml**
- Distribuer 20 µl d'échantillon patient ou de contrôle dans les puits appropriés. Prendre soin de ne pas ajouter l'échantillon directement sur la bandelette. **20 µl**
- Couvrir le plateau d'incubation avec le couvercle fourni et laisser incuber pendant la nuit (16-20 heures) à température ambiante (25°C ± 3°C) sur le plateau oscillant. **nuit**
- Enlever avec précaution le couvercle en évitant de provoquer des éclaboussures ou un mélange d'échantillons. Pencher le plateau pour aspirer le mélange liquide des puits. Changer d'embout à chaque échantillon pour éviter les contaminations croisées.
- Laver chaque bandelette 3 fois avec 2 ml de TAMPON DE LAVAGE DILUE en laissant un temps de trempage de 5 minutes sur le plateau oscillant entre chaque lavage. **3 x 2 ml**

Composant:	TAMPON CONCENTRÉ DE STOCKAGE (10x) TAMPON CONCENTRÉ DE LAVAGE (20x)
Terme d'avertissement:	Avertissement
Pictogramme:	
Mentions de danger:	H373 Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou 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 sécurité EUH210 disponible sur demande
Contient:	Thimerosal 0,1 <span> </span> %

- Éviter la contamination microbienne des réactifs au moment de prélever un aliquot dans les flacons d'origine.
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- Manipuler les échantillons, les bandelettes de nitrocellulose, les contrôles fortement et faiblement réactifs et le contrôle négatif comme potentiellement infectés.
- Porter une blouse et des gants jetables pour réaliser le test. Jeter les gants dans un contenant pour déchets biologiques contaminés. Bien se laver les mains ensuite.
- Il est fortement recommandé de réaliser ce test dans une hotte de sécurité microbiologique.
- Éloigner les prélèvements et réactifs de toute nourriture ou boisson.
- En cas de contact accidentel avec les yeux, rincer immédiatement avec une grande quantité d'eau et consulter un médecin.
- Consulter un médecin immédiatement en cas d'ingestion ou de contact de matériel contaminé avec une plaie ouverte ou autre blessure de la peau.
- Essuyer immédiatement les éclaboussures des matériels potentiellement infectés avec du papier absorbant et nettoyer la zone contaminée avec une solution à 1% d'hypochlorite de sodium avant de continuer les manipulations. L'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé directement sur des éclaboussures acides avant d'avoir essuyé celles-ci avec du papier absorbant. Le matériel utilisé, y compris les gants jetables, doit être éliminé comme du matériel potentiellement infecté. Ne pas autoclaver du matériel contenant de l'hypochlorite de sodium.
- Autoclaver tous les matériels utilisés et contaminés à 121°C 15 p.s.i. pendant 30 minutes avant de les éliminer. Une autre solution consiste à décontaminer les matériels dans une solution à 5% d'hypochlorite de sodium pendant 30 à 60 minutes, avant de les jeter dans des sacs poubelles pour déchets biologiques contaminés.
- Décontaminer les produits chimiques et les réactifs utilisés en y ajoutant un volume suffisant d'hypochlorite de sodium pour obtenir une concentration finale d'au moins 1%. Laisser en contact 30 minutes pour assurer une décontamination efficace.

PRECAUTIONS
-------------

PRECAUTIONS
-------------

Certains des antigènes cités dans le tableau ci-dessus proviennent de la même protéine précurseur et peuvent avoir des épitopes qui se recouvrent. Ceci doit être pris en compte lors de l'interprétation des bandes, par exemple :-

- Il est peu probable de détecter la gp41 en absence de gp160, car la gp160 est la forme polymérisée de la gp41, et la concentration en gp160 est plus élevée que celle de la gp41 sur le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3. La gp41 apparaît comme une bande diffuse. Toute bande fine et intense dans la zone de la gp41 ne doit pas être interprétée comme la bande de gp41. De nombreux échantillons normaux et non infectés par le HIV-1 se sont révélés positifs à cet antigène non-HIV, provenant vraisemblablement de la lignée cellulaire humaine utilisée par le développement du virus. Les bandes p42 et p39 sur toutes les deux des fragments de GAG et ne doivent pas être interprétées comme de la gp41 (ENV).

- p55 est le précurseur de p24 et p17. La bande p55 est généralement détectée en présence d'une forte réactivité au p24 et/ou au p17. Elle apparaît normalement comme une bande étroite juste au-dessus de la bande p51, ces deux bandes devenant parfois indiscernables et semblant alors n'en former qu'une.
- Les bandes POL, p66, p51 et p31 sont généralement présentes simultanément. Cependant la sensibilité de p66 et p31 est supérieure à celle de p51.
- La réactivité croisée avec le HIV-2 est variable, et présente généralement une réaction avec les antigènes GAG et/ou POL. Il peut également y avoir une réactivité croisée avec la bande gp160 dans certains cas, mais très rarement avec gp41.
- Il existe également une bande de poids moléculaire élevé autour de 160 kD, qui est supposée être une protéine précurseur de GAG-POL. Cette bande a été observée sur des échantillons présentant une concentration élevée de HIV-2 ou indéterminé (réactif seulement au GAG), mais elle est fine et intense, très différente de la bande diffuse de ENV gp160.

Le processus d'interprétation implique les éléments suivants :-

- Valider que la bande de contrôle d'ajout de l'échantillon est visible. Dans le cas contraire, les résultats doivent être considérés comme invalides car cela indique une erreur technique comme l'oubli de l'échantillon, du conjugué ou du substrat.
- Identifier le poids moléculaire de chaque bande, en utilisant les bandelettes des contrôles FORTEMENT et/ou FAIBLEMENT REACTIFS comme guide.
- L'interprétation de la bandelette est ensuite basée sur la présence de bandes spécifiques, selon les recommandations des autorités appropriées (Ministère de la Santé, OMS, ...).

Les recommandations spécifiques pour l'interprétation peuvent différer selon les réglementations locales. **MP Biomedicals** recommande de suivre les réglementations reconnues, en accord avec les règlements locaux. Le tableau ci-dessous liste certaines des directives recommandées par différents organismes internationaux.

ORGANISME	INTERPRETATION
Association of State and Territorial Public Health Laboratory Directors Centers for Disease Control (ASTPHLD1/CDC), 1989 USA	Au moins 2 bandes parmi p24, gp41, gp120/160
Centre National de Transfusion Sanguine	Deux bandes ENV(2) avec GAG ou POL
Organisation Mondiale de la Santé (OMS) 1990	Deux bandes ENV avec ou sans GAG ou POL

7

Consortium for Retrovirus Serology Standardization -CRSS (Consortium pour la standardisation des tests sérologiques sur rétrovirus) 1988 USA	Une bande ENV avec p24 ou p31
American Red Cross (Croix rouge américaine) 1988 USA	GAG, POL et ENV, une bande de chaque
Chinese Center for Disease Control and Prevention (CCDCP) 2004 Chine	Deux bandes ENV ou une bande ENV avec p24
National and State Reference Laboratories (NRL) 1987 Australie	Une bande ENV avec au moins une des bandes GAG ou POL
Société allemande de lutte contre les maladies virales (DVV)	Une bande ENV avec au moins une bande GAG ou POL, voir aussi DIN 58 969, section 41.

\*ASTPHLD a été rebaptisé Association of Public Health Laboratories en 1988.

Les directives suivantes sont recommandées pour l'interprétation du test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3. Le résultat doit être noté pour chaque bande détectée. L'interprétation doit être NEGATIF, POSITIF ou INDETERMINE.

SCHEMA	INTERPRETATION
Aucune bande virale spécifique	NEGATIF
Détection <b>UNIQUEMENT</b> des anticorps p17, sans aucune autre bande	NEGATIF
Détection de 2 ENV (gp160/gp41 et gp120) et GAG (p17, p24, p55) ou POL (p31, p51, p66)	POSITIF HIV-1
Présence de bandes virales spécifiques, mais ne correspondant pas au schéma des POSITIFS	INDETERMINE <sup>2</sup>

**\*INTERPRETATION DES RESULTATS POUR LES TESTS INDETERMINES:**

Les résultats INDETERMINES ne doivent pas être utilisés comme base de diagnostic de l'infection HIV1. En se basant sur le fait que la plupart des personnes ayant un résultat initial INDETERMINE et qui sont infectées avec le virus HIV1 vont développer en moins d'un mois des anticorps HIV détectables, le CDC (2001) a recommandé que de telles personnes soient retestées plus ou moins un mois plus tard. Les personnes dont le résultat INDETERMINE persiste après un mois ne sont probablement pas infectées sauf si une exposition récente au virus est suspectée.

D'après une récente étude de FIEBIG et al (2003), bien que la fenêtre de détection pour une infection primaire à HIV1 puisse atteindre 22 jours, l'évolution du Blot d' INDETERMINE à franchement POSITIF ne prend pas plus que 8 jours. De plus, ce laboratoire affirme que les Western Blot INDETERMINE sont toujours accompagnés d'ARN HIV1 détectables dans le cas de réelles infections. Inversement, aucune séroconversion ne s'est avérée lors du suivi de personnes ayant été testées positives avec un Western Blot INDETERMINE, une fois confirmées comme négatives par la PCR (Sethoe et al, 1995). Donc il est raisonnable de considérer les personnes ayant un résultat Western Blot INDETERMINE avec un test ARN négatif comme probablement non infectés par le VIH, surtout quand les individus testés sont connus comme n'étant pas "à risque".

En particulier, les personnes testées INDETERMINE en Western Blot et ayant été testées avec un ELISA de 4ème génération devraient de plus subir le test ARN utilisant une base moléculaire comme le RT-PCR couvrant les HIV 1/2/O. Si nécessaire, un suivi doit être mené un mois plus tard avec un test supplémentaire. La seule raison d'utiliser la technique

ELISA de 4ème génération est la détection simultanée des antigènes et des anticorps. Par conséquent, les échantillons identifiés comme positifs avec une technique ELISA de 4ème génération doivent contenir ou les antigènes ou les anticorps ou les deux. Bien que plus de 95% des cas de vrais positifs identifiés par une technique de 4ème génération soient réellement confirmés par Western Blot (Ly et al, 2000), un test supplémentaire utilisant la détection ARN est apparu inévitable pour la petite part de réactivité liée à l'antigène P24. De nouveau, les personnes non considérées comme "à risque" ne sont probablement pas infectées par le HIV, si elles sont détectées positives par l'ELISA de 4ème génération avec un Western Blot INDETERMINE et un résultat ne pouvant être confirmé comme positif par la technique ARN couvrant les HIV 1/2/O.

Néanmoins, les tests ADN et ARN du HIV pour la détection des acides nucléiques (NAT) n'étaient pas reconnus à des fins de diagnostic par les autorités compétentes (US CDC, 2001; Constantine & Zink, 2005) jusqu'il y a peu de temps. A ce jour, un seul test qualitatif ARN est reconnu par la FDA des US pour le diagnostic primaire des infections aiguës à HIV. Donc, les algorithmes recommandés par le CDC des US (2001) et de l'OMS (2004) doivent encore être mis à jour et les tests acides nucléiques (NAT) doivent y être inclus comme méthodes permettant de résoudre les résultats INDETERMINE en Western Blot. Cependant, le CDC des US (2001) reconnaissait qu'en présence des spécialistes clinique et de laboratoire, les tests nucléiques (NAT) pouvaient être utiles pour déterminer le statut infectieux des personnes ayant un résultat en Western Blot INDETERMINE.

#### LIMITES DE LA PROCEDURE

La détection des anticorps dirigés contre le HIV-1 ne constitue pas le diagnostic du Syndrome de l'Immuno-Déficience Acquise (SIDA). Un résultat NEGATIF du blot n'est pas une garantie de l'absence de l'agent responsable du SIDA. Bien qu'un blot POSITIF aux anticorps contre l'HIV-1 indique une infection par le virus, le diagnostic du SIDA ne peut être réalisé que de manière clinique, quand les conditions établies par le CDC (Center for Disease Control), l'OMS ou toute autre autorité compétente, sont remplies par le patient.

Il est reconnu que les patients de séroconversion récente peuvent présenter un schéma de bandes incomplet. Mais la réactivité s'accroît (en nombre de bandes et en intensité) au cours du temps pendant deux à six mois. La plupart des blots POSITIFS présentent d'autres bandes virales spécifiques.

Les blots INDETERMINES ne doivent pas être utilisés comme base de diagnostic de l'infection au HIV-1. Il est recommandé de répéter le test de tous les échantillons INDETERMINES, en utilisant le même prélèvement et d'autres prélèvements successifs. Les donneurs de sang présentant un résultat INDETERMINE doivent être retestés avec un nouveau prélèvement 2 à 6 mois après le premier résultat. Il est également reconnu que les anticorps anti-p24 et p31 diminuent au cours du SIDA et peuvent conduire à l'évolution du résultat POSITIF vers INDETERMINE. Dans de telles situations, l'interprétation des résultats doit être réalisée avec la connaissance des résultats successifs des tests de blot et l'évaluation clinique.

Comme il existe des réactions croisées entre les souches de HIV-1 et HIV-2, un échantillon de HIV-2 peut apparaître avec un résultat INDETERMINE sur le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3. Si on suspecte la présence de HIV-2, un test plus spécifique du HIV-2, comme le test **MP Diagnostics** HIV-2 Western Blot 1.2 doit être utilisé pour confirmer l'infection au HIV-2. Le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3 n'est pas destiné à la détection du HIV-2.

#### CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES DE PERFORMANCE

Le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3 est similaire au test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 2.2. Techniquement et biologiquement, il ont des paramètres similaires de :

- conditions d'utilisation;
- spécifications / propriétés;
- aspect extérieur;
- méthodes de réalisation du test;
- principes de fonctionnement
- mêmes matériaux en contact avec les mêmes types de prélèvements

La seule différence entre les deux produits est l'absence de la bande du peptide HIV-2 sur le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3.

De ce fait, la sensibilité et la spécificité du test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3 pour la détection des anticorps dirigés contre le HIV-1 est basée sur des résultats obtenus avec le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 2.2. Les caractéristiques de performance sont indiquées ci-dessous.

#### Sensibilité et spécificité

**Table 1** : étude de sensibilité de la réactivité de l'antigène viral du HIV-1 avec des échantillons séropositifs au HIV-1 (201 échantillons).

PROFIL SEROLOGIQUE	HIV BLOT 2.2	DUPONT/ORTHO HIV-1 WB
GAG, POL et ENV	97.5%	95.4%
p24, p31, gp41 et/our gp120/gp160	94.9%	90.9%
ENV et GAG our POL	100.0%	100.0%

**Table 2** : étude de spécificité de la réactivité de l'antigène viral du HIV-1 avec des échantillons de donneurs sains et des sérum avec d'autres infections.

SAMPLE TYPE	NUMBER TESTED	POSITIVE	HIV-1 REACTIVITY	
			INDETERMINATE	NEGATIVE
Donneurs sains	208	0	11	197
HTLV-1	5	0	0	5
CMV	5	0	1	4
EBV (IgM)	5	0	1	4
Varicelle (IgG)	5	0	1	4
Rougeole	6	0	2	4
Rubéole	5	0	1	4
Oreillons	4	0	1	3
Adénovirus	5	0	2	3
Herpes simplex	5	0	0	5
Dengue	5	0	1	4
<b>Total</b>	<b>258</b>	<b>0</b>	<b>21</b>	<b>237</b>

\* Tous les échantillons ne présentaient qu'une bande p24 ou p17 seulement.

8

#### Séroconversion

Un total de 15 panels de séroconversion au HIV-1 disponibles dans le commerce ont été évalués avec le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3. Les résultats ont montré que le test **MP Diagnostics** HIV-1 BLOT 1.3 est capable de détecter les anticorps dirigés contre le HIV-1 plus tôt ou sur le même échantillon dans tous les panels.

#### LIMITE DE GARANTIE

Le fabricant ne donne aucune garantie exprimée autre que celle que la trousse fonctionne comme un réactif de diagnostic *in vitro* conformément aux spécifications et limites décrites dans les Instructions d'Utilisation, quand elle est utilisée en respectant les instructions contenues ici. Le fabricant exclut toute garantie, exprimée ou implicite, y compris de valeur commerciale, d'adaptation à un usage particulier ou d'utilité implicite. Le fabricant limite sa responsabilité au remplacement du produit ou au remboursement du prix d'achat du produit. Le fabricant ne pourra être tenu pour responsable auprès de l'acheteur ou d'une tierce partie pour tout dommage, atteinte physique ou perte économique causée par le produit ou son utilisation.

#### INCIDENTS TECHNIQUES / RECLAMATIONS

Si un incident technique survient ou pour faire une réclamation, procéder de la manière suivante :

- Noter le numéro de lot de la trousse, sa date de validité et le numéro de lot de la bandelette.
- Ne plus utiliser la trousse incriminée et ne pas exploiter les résultats obtenus avec celle-ci.
- Contactez le représentant ou le distributeur de **MP-Biomedicals** le plus proche.

#### BIBLIOGRAPHIE

- V.C.W. Tsang, K. Hancock, M. Wilson, D.F. Palmer, S. Whaley, J.S. McDougal et S. Kennedy, Developmental procedure : Enzyme-Linked Immuno-electro-transfer Blot technique for HTLV-III/LAV antibodies, CDC Atlanta, March 1985.
- H. Towbin, T. Staehlin et J. Gordon, Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications, Proc. Natl., Acad. Sci. USA, 76, 4350-4354, 1979.
- J. Schupbach, M. Popovic, R.V. Gilden, M.A. Gonds, M.G. Sarngadharan et R.C. Gallo, Serological analysis of subgroup of Human T-Lymphotropic Retroviruses (HTLV-III) associated with AIDS, Science, 224, 503-505, 1984.
- M.G. Sarngadharan, M. Popovic, L. Bruch, J. Schupbach et R.C. Gallo, Antibodies reactive with human T-Lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS, Science, 224, 506-508, 1984.
- Center for Disease Control (CDC), Provisional public health service inter-agency recommendations for screening donated blood and plasma for antibody to the virus causing Acquired Immune Deficiency Syndrome, United States Morbidity and Mortality Weekly Report, 34(1), 1-5, 1985.
- WHO Collaborating Group on HIV-2, WHO Weekly Epidem. Rec., 10, 74-75, 1990.

- F. Clavel, D. Guetard, F. Brun-Vesinet et al., Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS, Science, 233, 343-346, 1986.
- F. Clavel, HIV-2, the West African AIDS virus, AIDS, 1, 135-140, 1987.
- R.S. Tedder, A. Hughes, T. Corrah et al., Envelope cross-reactivity in Western Blot for HIV-1 and HIV-2 may not indicate dual infection, Lancet, 11, 927-930, 1988.
- B. Bottiger, A. Karlsson, F. Andreasson et al., Envelope cross-reactivity between Human Immunodeficiency Virus Type 1 and 2 detected by different serological methods : correlation between cross neutralization against the main neutralizing site, J. Virol., 64(7), 3492-3499, 1990.
- Ming Guan, Frequency, causes and new challenges of indeterminate results in Western Blot Confirmatory Testing for Antibodies to Human Immunodeficiency Virus. Clinical and Vaccine Immunology, June 2007, Vol.14, No.6, p649-659.7

**MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.**  
 2 Pioneer Place  
 Singapore 627885  
 Tél : + 65 6775 0008  
 Fax : + 65 6774 6146  
 Courriel : enquiry\_ap@mpbio.com

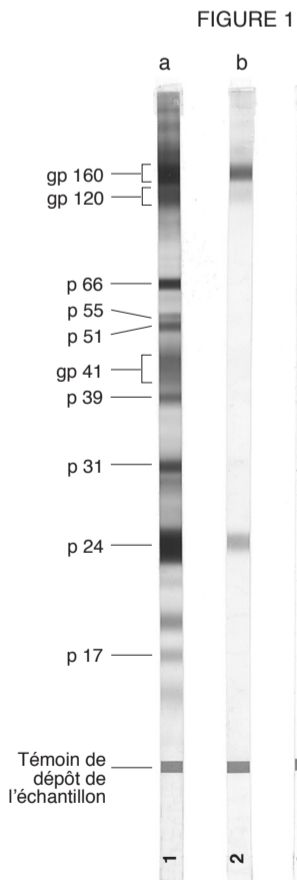
**EC REP** **MP Biomedicals Germany GmbH**  
 Thüringer Straße 15  
 37269 Eschwege  
 Allemagne  
 Tél : +49 5651 921 204  
 Fax : +49 5651 921 181  
 Courriel : diagnostics@mpbio.com

Bureau régional :

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

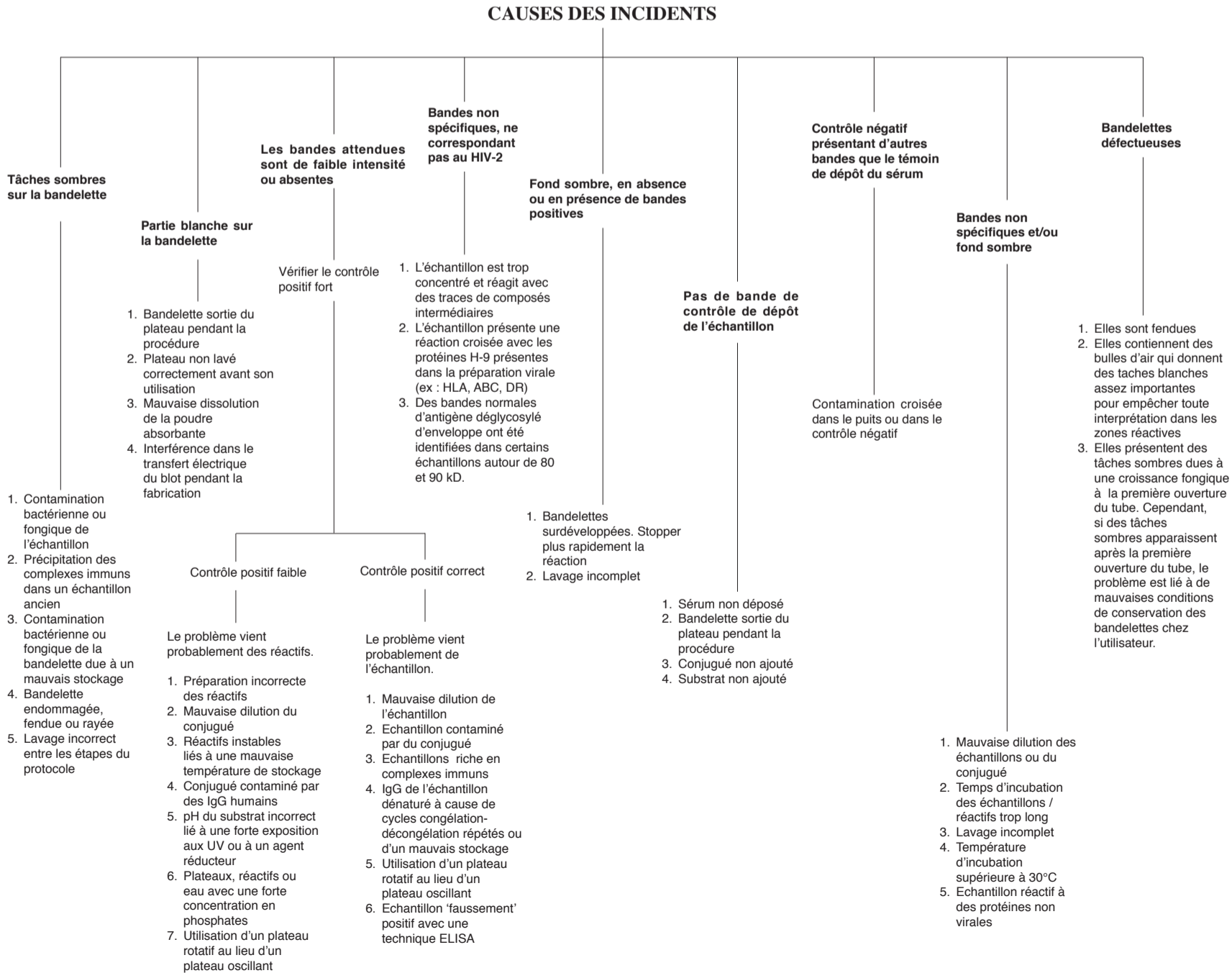
\* Brevet US 5,721,095

9



Bandes virales spécifiques visualisées avec les contrôles :  
 a) fortement réactif  
 b) faiblement réactif  
 c) non réactif

10



11

12