

PLATELIA™ LYME IgG

1 plaque -  96

 72952

**DETECTION QUALITATIVE DES ANTICORPS IgG
ANTI-BORRELIA BURGDORFERI SENSU LATO
DANS LE SERUM, LE PLASMA OU LE LIQUIDE
CEPHALO-RACHIDIEN HUMAIN PAR METHODE
IMMUNOENZYMATIQUE**

 IVD

 CE



883713 - 2016/10

BIO-RAD

1- DOMAINE D'UTILISATION

Platelia™ Lyme IgG est un test immunoenzymatique de type ELISA indirect pour la détection qualitative des anticorps IgG dirigés contre *Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le sérum ou le plasma ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) humain.

2- INTERET CLINIQUE

La borréliose de Lyme, ou maladie de Lyme, est une maladie infectieuse non contagieuse, due à une bactérie de la famille des Spirochetaceae, *Borrelia burgdorferi*, transmise par des tiques du genre *Ixodes* (3). Le réservoir du germe est constitué par toute une variété d'animaux. La transmission à l'homme se fait lors de la morsure des tiques, et le risque de transmission est d'autant plus grand que la morsure dure plus longtemps.

La maladie de Lyme est largement répandue dans les régions tempérées et froides de l'hémisphère nord, de la Chine à l'Amérique du Nord et de la Scandinavie à l'Afrique du Nord. On estime environ à 17 000 le nombre de cas annuels aux Etats-Unis (4), et à plus de 50 000 celui en Europe, où il semble exister un gradient positif d'ouest en est (6).

Il est maintenant établi que la bactérie *Borrelia burgdorferi*, décrite en 1984 comme une espèce unique, est un complexe de plusieurs espèces, dont cinq ont un pouvoir pathogène certain pour l'homme : *Borrelia burgdorferi* sensu stricto (ss), *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia spielmanii* et *Borrelia bavariensis* (9, 11). Deux autres espèces sont potentiellement pathogènes : *Borrelia valaisiana* et *Borrelia lusitaniae*.

Ces sept espèces circulent en Europe tandis que seule *B. burgdorferi* sensu stricto est retrouvée aux Etats-Unis.

Les symptômes de la maladie de Lyme sont variés et parfois difficiles à reconnaître (10). L'évolution clinique se déroule selon trois phases distinctes. Le stade précoce (Stade I), peut être asymptomatique ou se traduire par un tableau pseudo-grippal. Dans 50 à 80% des cas, on note l'apparition plusieurs jours ou semaines après la morsure de la tique d'un rash cutané inflammatoire à extension centrifuge d'aspect très particulier nommé erythema migrans (EM). En l'absence de traitement, la dissémination des *Borrelia* par voie sanguine se traduit quelques semaines plus tard par la survenue d'arthrites inflammatoires, d'atteintes neurologiques et méningées, de manifestations cutanées ou cardiaques (Stade II). Après plusieurs mois ou années, la maladie évolue vers une forme chronique associant à des degrés divers acrodermatite chronique atrophiante, encéphalopathie, encéphalomyélite et arthrite chronique (Stade III) (1).

Il existe un tropisme organique particulier à chacune des espèces. Si le premier stade d'érythème migrant est indistinctement lié aux trois espèces, l'évolution vers une forme neurologique est préférentiellement associée à l'espèce *B. garinii*, les arthrites plutôt à *B. burgdorferi* ss, l'acrodermatite chronique atrophiante étant quant à elle spécifique de *B. afzelii*.

Le diagnostic de maladie de Lyme ne doit être posé qu'après une évaluation rigoureuse des antécédents du patient, de ses critères cliniques et biologiques, et de l'évaluation du risque de contamination. En raison des difficultés de l'examen direct, de la culture bactérienne et de la mise en œuvre des techniques de biologie moléculaire, la sérologie reste l'élément clé du diagnostic biologique de la maladie de Lyme (1, 7, 12). Les anticorps IgM anti-*Borrelia burgdorferi* apparaissent en général 3 à 6 semaines après le début de l'infection et peuvent persister pendant l'évolution de la maladie. La réponse IgG est plus tardive et n'atteint son pic qu'après des mois, voire des années. S'il est moins utile en stade précoce, le diagnostic sérologique s'avère en revanche indispensable lors des stades secondaires ou tertiaires, notamment en l'absence d'érythème migrant. Lorsque la sérologie est négative et le contexte clinique évocateur, une nouvelle sérologie doit être réalisée 3 semaines après le premier prélèvement. La présence d'IgM spécifiques n'est pas synonyme d'infection récente, de même que la présence d'IgG n'est pas toujours le signe d'une infection ancienne.

Par ailleurs, la détermination de l'index de synthèse intrathécale des anticorps IgG spécifiques permet d'orienter le diagnostic en cas de suspicion de Neuroborréliose de Lyme (2, 5, 8).

La nature des antigènes et des anticorps utilisés dans les réactifs Platelia™ Lyme IgG (Réf. 72952) et Platelia™ Lyme IgM (Réf. 72951) permettent respectivement la détection des anticorps spécifiques IgG et IgM dirigés contre les différentes souches américaines et européennes de *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. burgdorferi* ss, *B. garinii*, *B. afzelii*).

3- PRINCIPE

Platelia™ Lyme IgG est un test permettant la détection qualitative des anticorps IgG anti-*Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le sérum, le plasma ou le LCR humain par une méthode immunoenzymatique sur phase solide dite technique « ELISA indirecte ».

Des antigènes de *Borrelia burgdorferi* inactivés sont utilisés pour sensibiliser la microplaque. Un anticorps monoclonal marqué à la peroxydase et spécifiquement dirigé contre les chaînes gamma humaines (anti-IgG) est utilisé comme conjugué. La mise en œuvre du test comprend les étapes suivantes :

- **Etape 1**

Les échantillons de patients (sérum ou plasma) ainsi que les contrôles sont dilués au 1/101. Les échantillons de LCR sont dilués au 1/2. Les échantillons dilués sont ensuite déposés dans les cupules de la microplaque. Durant cette incubation de 1 heure à 37°C, les IgG anti-*Borrelia burgdorferi* présentes dans l'échantillon se lient à l'antigène *Borrelia* fixé sur les cupules de la microplaque. Les IgG non spécifiques de *Borrelia burgdorferi* et les autres protéines sériques sont éliminées par les lavages pratiqués à la fin de l'incubation.

- **Etape 2**

Le conjugué (anticorps monoclonal spécifique des chaînes gamma humaines et marqué à la peroxydase) est déposé dans toutes les cupules de la microplaque. Durant cette incubation de 1 heure à 37°C, l'anticorps marqué se lie aux IgG sériques ayant réagi avec l'antigène *Borrelia*. Le conjugué non lié est éliminé par les lavages pratiqués à la fin de l'incubation.

- **Etape 3**

La présence des complexes (Ag *Borrelia*, IgG anti-*Borrelia burgdorferi*, conjugué anti-IgG) éventuellement formés est révélée par l'addition dans chaque cupule d'une solution de révélation enzymatique.

- **Etape 4**

Après incubation à température ambiante (+18-30°C), la réaction enzymatique est stoppée par addition d'une solution d'acide sulfurique 1N. La densité optique lue à 450/620 nm est proportionnelle à la quantité d'IgG anti-*Borrelia burgdorferi* présente dans l'échantillon testé.

4- COMPOSITION DE LA TROUSSE

Les réactifs sont fournis en quantité suffisante pour réaliser 96 déterminations en un maximum de 6 séries. Tous les réactifs sont destinés à l'usage exclusif du diagnostic *in vitro*.

Etiquetage		Réactifs	Présentation
R1	Microplate	Microplaque (prêt à l'emploi) : 12 barrettes de 8 cupules à puits sécables sensibilisées avec l'antigène natif <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu stricto inactivé	1
R2	Concentrated Washing Solution (20x)	Solution de lavage (20x) : TRIS-NaCl (pH 7,4), 2% Tween® 20. Conservateur : 0,04% ProClin™ 300	1 x 70 ml
R3	Negative Control	Contrôle Négatif : Sérum humain négatif en IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato, en antigène HBs et en anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et anti-VHC Conservateur : 0,15% ProClin™ 300	1 x 0,75 ml
R4	Cut-off Control	Contrôle Valeur Seuil : Sérum humain réactif pour les IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato, et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et anti-VHC. Conservateur : 0,15% ProClin™ 300	1 x 0,75 ml
R5	Positive Control	Contrôle Positif : Sérum humain réactif pour les IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato, et négatif en antigène HBs et en anticorps anti-VIH1, anti-VIH2 et anti-VHC. Conservateur : 0,15% ProClin™ 300	1 x 0,75 ml
R6	Conjugate (51x)	Conjugué (51x) : Anticorps monoclonal d'origine murine anti-chaînes gamma humaines couplé à la peroxydase Conservateur : 0,16% ProClin™ 300	1 x 0,7 ml
R7	Diluent	Diluant pour échantillons et conjugué : (prêt à l'emploi) : Tris-NaCl (pH 7,7), sérum de veau fœtal, 0,1% de Tween® 20 et rouge de phénol Conservateur : 0,15% ProClin™ 300	2 x 65 ml
R9	Chromogen TMB	Chromogène (prêt à l'emploi) : 3,3',5,5' tétraméthylbenzidine (< 0.1%), H ₂ O ₂ (<1%)	1 x 28 ml
R10	Stopping Solution	Solution d'arrêt (prêt à l'emploi) : Solution d'acide sulfurique 1N	1 x 28 ml

Se reporter aux indications mentionnées sur le coffret pour connaître les conditions de conservation et la date d'expiration des réactifs.

5- PRECAUTIONS D'UTILISATION

La qualité des résultats dépend du respect des Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

- Ne pas utiliser les réactifs après la date d'expiration.
- Ne pas mélanger, ni associer au cours d'une même série, des réactifs provenant de trousse portant des numéros de lots différents.

REMARQUE : Il est possible d'utiliser d'autres lots de Solution de Lavage (R2 identifié 20x en vert), de Chromogène (R9 identifié TMB en turquoise) et de Solution d'Arrêt (R10 identifié 1N en rouge) que ceux fournis avec la trousse, sous réserve d'utiliser des réactifs strictement équivalents d'un seul et même lot au cours d'une même série.

- Avant utilisation, attendre 30 minutes que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante (+18-30°C).
- Reconstituer ou diluer soigneusement les réactifs en évitant toute contamination.
- Ne pas réaliser le test en présence de vapeurs réactives (acides, alcalines, aldéhydes) ou de poussières qui pourraient altérer l'activité enzymatique du conjugué.
- Utiliser de préférence du matériel à usage unique. A défaut, utiliser une verrerie parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée.
- Le lavage des cupules est une étape essentielle de la manipulation : respecter le nombre de cycles de lavages prescrit, et s'assurer que toutes les cupules sont complètement remplies, puis complètement vidées. Un mauvais lavage peut entraîner des résultats incorrects.
- Ne pas laisser la microplaque sécher entre la fin des lavages et la distribution des réactifs.
- Ne jamais utiliser le même récipient pour distribuer le conjugué et la solution de révélation.
- La réaction enzymatique est très sensible à tous métaux ou ions métalliques. Par conséquent, aucun élément métallique ne doit entrer en contact avec les différentes solutions contenant le conjugué ou le chromogène.
- Le Chromogène (R9) doit être incolore. L'apparition d'une coloration bleue indique que le réactif est inutilisable et doit être remplacé.
- Utiliser un cône de distribution neuf pour chaque échantillon.
- Vérifier l'exactitude des pipettes et le bon fonctionnement des appareils utilisés.

CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

Les composants d'origine humaine utilisés dans la préparation des réactifs ont été testés et trouvés non réactifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), les anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C (anti-VHC) et les anticorps dirigés contre le virus de l'immunodéficience humaine (anti-VIH1 et anti-VIH2). Du fait qu'aucune méthode ne peut garantir de façon absolue l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs d'origine humaine ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage :

- Considérer le matériel directement en contact avec les échantillons et les réactifs d'origine humaine ainsi que les solutions de lavage comme des produits contaminés.
- Porter des gants à usage unique lors de la manipulation des réactifs et des échantillons.
- Ne pas pipeter à la bouche.
- Eviter les éclaboussures d'échantillons ou de solutions les contenant. Nettoyer les surfaces souillées avec de l'eau de javel diluée à 10%. Si le liquide contaminant est un acide, neutraliser au préalable les surfaces souillées avec du bicarbonate de soude, puis nettoyer à l'aide d'eau de javel et sécher avec du papier absorbant. Le matériel utilisé pour le nettoyage devra être jeté dans un conteneur spécial pour déchets contaminés.
- Eliminer les échantillons, les réactifs d'origine humaine ainsi que le matériel et les produits contaminés après décontamination :
 - soit par immersion dans de l'eau de javel à la concentration finale de 5% d'hypochlorite de sodium pendant 30 minutes.
 - soit par autoclavage à 121°C pendant 2 heures minimum.

ATTENTION : ne pas introduire dans l'autoclave des solutions contenant de l'hypochlorite de sodium

- Eviter tout contact du Chromogène et de la Solution d'Arrêt avec la peau et les muqueuses.
- La manipulation et l'élimination des déchets chimiques et biologiques doivent être faites selon les Bonnes Pratiques de Laboratoire.
- Tous les réactifs de la trousse sont destinés au seul usage diagnostic *in vitro*.

- Pour connaître les recommandations liées aux risques et les précautions relatives à certains produits chimiques contenus dans ce kit, consulter le(s) pictogramme(s) figurant sur les étiquettes et les informations fournies à la fin des instructions d'utilisation. La fiche technique de sécurité est disponible sur www.bio-rad.com.

6- ECHANTILLONS

1. Les tests sont effectués sur des échantillons de sérum ou de plasma recueilli sur anticoagulant de type EDTA, héparine ou citrate, ou sur liquide céphalo-rachidien..
2. Respecter les consignes suivantes pour le prélèvement, le traitement et la conservation de ces échantillons de sang :
 - Prélever un échantillon de sang selon les pratiques en usage.
 - Pour les sérums, laisser le caillot se former complètement avant centrifugation.
 - Conserver les tubes fermés.
 - Après centrifugation, extraire le sérum ou le plasma et le conserver en tube fermé.
 - Les échantillons seront conservés à +2-8°C si le test est effectué dans les 7 jours.
 - Si le test n'est pas effectué dans les 7 jours, ou pour tout envoi, les échantillons seront congelés à -20°C (ou plus froid).
 - Il est recommandé de ne pas procéder à plus de cinq cycles de congélation/décongélation. Les échantillons devront être soigneusement homogénéisés (Vortex) après décongélation et avant la réalisation du test.
3. Les résultats sur sérum ou plasma ne sont pas affectés par les échantillons contenant 90 g/l d'albumine ou 100 mg/l de bilirubine non conjuguée, les échantillons lipémiques contenant l'équivalent de 36 g/l de trioléine (triglycéride) ou les échantillons hémolysés contenant 10 g/l d'hémoglobine.
4. Ne pas chauffer les échantillons.
5. Pour la recherche d'une synthèse intrathécale des IgG, utiliser des échantillons de LCR recueillis par ponction lombaire simultanément au sérum ou plasma. Respecter les consignes de prélèvement propres à ce type d'échantillon. En particulier, il convient de ne pas utiliser d'échantillons troubles ou présentant un aspect hétérogène (utiliser dans ce cas le surnageant après centrifugation), ou d'échantillons fortement hémolysés. Les échantillons de LCR devront être testés immédiatement après recueil.

Si leur conservation pour investigation ultérieure est nécessaire, ceci peut être fait à 4-8°C (à court terme) ou à -20°C (long terme) (5).

NOTE: La stabilité des échantillons de LCR à 4-8°C ou -20°C, ou après plusieurs cycles de congélation décongélation, ou en présence de substances interférentes mentionnées au point 3 ci-dessus n'a pas été évaluée.

7- MODE OPÉRATOIRE

7.1. MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Agitateur type Vortex.
- Appareil de lecture pour microplaques équipé de filtres 450/620 nm (*).
- Incubateur de microplaques pouvant être thermostaté à 37°C (*).
- Système de lavage automatique, semi-automatique ou manuel pour microplaques (*).
- Eau distillée ou désionisée stérile.
- Gants à usage unique.
- Lunettes de protection.
- Papier absorbant.
- Pipettes ou multipipettes, automatiques ou semi-automatiques, réglables ou fixes, pouvant mesurer de 10 µl à 1000 µl, et 1 ml, 2 ml et 10 ml.
- Eprouvettes graduées de 25 ml, 50 ml, 100 ml et 1000 ml.
- Hypochlorite de sodium (eau de javel) et bicarbonate de sodium.
- Conteneur de déchets contaminés.
- Tubes à usage unique

(*) Nous consulter pour une information précise concernant les appareils validés par nos services techniques.

7.2. RECONSTITUTION DES REACTIFS

- **R1:** Laisser revenir 30 minutes à température ambiante (+18-30°C) avant ouverture du sachet. Sortir le cadre et replacer immédiatement les barrettes non utilisées dans le sachet en vérifiant la présence du dessicant. Refermer soigneusement le sachet et le replacer à +2-8°C.
- **R2:** Diluer au 1/20 la solution R2 avec de l'eau distillée : 50 ml de R2 dans 950 ml d'eau distillée. On obtient ainsi la solution prête à l'emploi. Prévoir 350 ml de solution de lavage diluée pour une plaque entière de 12 barrettes en lavage manuel.
- **R3, R4, R5:** Diluer au 1/101 dans le Diluant (R7) (exemple : 10 µl R3 + 1 ml R7)

- **R6+R7:** Le Conjugué R6 est présenté sous forme liquide concentré 51 fois. Homogénéiser avant utilisation. Diluer au 1/51 avec le Diluant (R7). Pour une plaque complète, diluer extemporanément 0,5 ml de Conjugué (R6) dans 25 ml de Diluant (R7). Diviser les volumes par 5 pour deux barrettes.

7.3. CONSERVATION ET VALIDITE DES REACTIFS OUVERTS ET / OU RECONSTITUES

La trousse doit être conservée à +2-8°C. Chaque élément de la trousse conservée avant ouverture à +2-8°C peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

- **R1:** Après ouverture, les barrettes conservées dans le sachet correctement refermé sont stables pendant 1 mois à +2-8°C (vérifier la présence du dessicant).
- **R2:** Après dilution, la Solution de Lavage se conserve 2 semaines à +2-30°C. Après ouverture et en l'absence de contamination, la Solution de Lavage concentrée peut être conservée à +2-30°C jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.
- **R3, R4, R5, R6, R7:** Après ouverture et en l'absence de contamination, les réactifs conservés à +2-8°C sont stables pendant 1 mois.
- **R6+R7:** Après dilution, la solution de travail du conjugué est stable 8 heures à température ambiante (+18-30°C) ou 24 heures à +2-8°C.
- **R9:** Après ouverture et en l'absence de contamination, le réactif conservé à +2-8°C est stable pendant 2 mois.
- **R10:** Après ouverture et en l'absence de contamination, le réactif conservé à +2-8°C est stable jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

7.4. MODE OPERATOIRE POUR LES ECHANTILLONS DE SERUM OU PLASMA

Suivre strictement le protocole proposé et appliquer les Bonnes Pratiques de Laboratoire.

Avant utilisation, laisser tous les réactifs revenir à température ambiante (+18-30°C).

Utiliser les sérums de contrôles à chaque mise en œuvre du dosage pour valider la qualité du test.

1. Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des sérums de contrôle et des échantillons de patients.
2. Préparer la Solution de Lavage diluée (R2) [Se référer au Chapitre 7.2].
3. Sortir le cadre support et les barrettes (R1) de l'emballage protecteur [Se référer au Chapitre 7.2].

4. Diluer les sérums de contrôle R3, R4, R5 et les échantillons de patients à tester (S1, S2...) au 1/101 dans le Diluant (R7), soit 10 µl d'échantillon et 1,0 ml de Diluant (R7). Bien homogénéiser (Vortex).
5. Distribuer dans chaque cupule 200µl des sérums de contrôle et des échantillons dilués selon le schéma suivant :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	R3	S5	S13									
B	R4	S6										
C	R4	S7										
D	R5	S8										
E	S1	S9										
F	S2	S10										
G	S3	S11										
H	S4	S12										

6. Couvrir la microplaque d'un film adhésif en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité, puis incuber immédiatement la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaques pendant 1 heure ± 5 minutes à 37°C ± 1°C.
7. A la fin de la première incubation, retirer le film adhésif, aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et procéder à 4 lavages avec 350 µl de la Solution de Lavage (R2). Sécher les barrettes par retournement sur une feuille de papier absorbant et taper légèrement afin d'éliminer la totalité de la Solution de Lavage.
8. Préparer la solution de travail du conjugué (R6+R7) [Se référer au Chapitre 7.2]. Distribuer immédiatement 200 µl de la solution de travail du conjugué (R6+R7) dans toutes les cupules. Agiter délicatement cette solution avant l'emploi.
9. Couvrir la microplaque d'un film adhésif en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité. Incuber la microplaque au bain-marie thermostaté ou dans un incubateur sec de microplaques pendant 1 heure ± 5 minutes à 37°C ± 1°C.
10. A la fin de la deuxième incubation, retirer le film adhésif, aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium) et procéder à 4 lavages avec 350 µl de la Solution de Lavage (R2). Sécher les barrettes par retournement sur une feuille de papier absorbant et taper légèrement afin d'éliminer la totalité de la Solution de Lavage.

11. Distribuer rapidement, et à l'abri de la lumière vive, 200 µl du Chromogène (R9) dans toutes les cupules. **Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à température ambiante (+18-30°C)**. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.
12. Arrêter la réaction enzymatique en ajoutant 100 µl de la Solution d'Arrêt (R10) dans chaque cupule. Adopter la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.
13. Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450/620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction. Les barrettes doivent toujours être conservées à l'abri de la lumière avant la lecture.
14. S'assurer, avant la transcription des résultats, de la concordance entre la lecture et le plan de distribution des plaques et des échantillons.

7.5. MODE OPERATOIRE POUR LES ECHANTILLONS DE LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN

NOTE: La détermination de la synthèse intrathécale des anticorps IgG à l'aide de la trousse Platelia™ Lyme IgG est basée sur l'utilisation de la formule de Reiber. Pour chaque patient suspecté de Neuroborréliose de Lyme, un couple apparié d'échantillons sérum/plasma et LCR doit être recueilli simultanément. Les deux échantillons seront testés au sein de la même série.

Diluer les échantillons de LCR au 1/2 dans le Diluant R7, soit 150µl de LCR et 150µl de Diluant R7. Bien homogénéiser (Vortex). Hormis la dilution du LCR, suivre strictement le protocole proposé ci-dessus pour les tests sur sérum ou plasma.

8- CALCUL ET INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

8.1. CALCUL DE LA VALEUR SEUIL (VS)

La valeur Seuil VS correspond à la moyenne des densités optiques (DO) des duplicats du Contrôle Valeur Seuil (R4) :

VS = moyenne DO R4

8.2. CALCUL DU RATIO ECHANTILLON (SÉRUM OU PLASMA)

Les résultats pour un échantillon donné sont exprimés sous forme d'un ratio à l'aide de la formule suivante :

Ratio Echantillon = DO échantillon/VS

8.3. CONTRÔLE DE QUALITÉ

Analyser les résultats de DO obtenus avec les sérums de contrôle sur chaque microplaque et pour chaque série. Pour valider la manipulation, les critères suivants doivent être respectés :

- Valeurs des densités optiques :
 - $VS > 0,200$
 - $0,80 \times VS < DO \text{ R4 Repl.1} < 1,20 \times VS$
 - $0,80 \times VS < DO \text{ R4 Repl.2} < 1,20 \times VS$

(La DO individuelle de chacun des duplicats du Contrôle R4 ne doit pas s'écarter de plus de 20% de la Valeur Seuil)

- Rapports des densités optiques :
 - Ratio R3 ($DO \text{ R3} / VS$) $< 0,5$
 - Ratio R5 ($DO \text{ R5} / VS$) $> 2,0$

Si ces critères ne sont pas respectés, recommencer la manipulation.

8.4. INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (SÉRUM OU PLASMA)

Ratio échantillon	Résultat	Interprétation
Ratio $< 0,80$	Négatif	L'échantillon est considéré négatif pour la présence d'anticorps IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.
$0,80 \leq \text{Ratio} < 1,2$	Douteux	L'échantillon est considéré douteux pour la présence d'anticorps IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato. Le résultat doit être confirmé par un nouveau test réalisé sur un nouvel échantillon prélevé au minimum 3 semaines après la date du 1 ^{er} examen.
Ratio $\geq 1,2$	Positif	L'échantillon est considéré positif pour la présence d'anticorps IgG anti- <i>Borrelia burgdorferi</i> sensu lato.

En cas de suspicion d'infection, des tests sérologiques complémentaires tels que la recherche des IgM anti-*Borrelia* peuvent être utiles pour confirmer le diagnostic. En cas de sérologie positive ou douteuse, il est recommandé de tester les échantillons par une méthode de confirmation de type Western-Blot (12).

8.5. CALCUL POUR LA DÉTERMINATION DE LA SYNTHÈSE INTRATHÉCALE DES IgG

La détermination de la synthèse intrathécale est faite à l'aide du calcul de l'Index Anticorps IgG (AI_{IgG}) en appliquant la Formule de Reiber (2, 5, 8).

Déterminer pour chaque paire d'échantillons sérum et LCR leurs valeurs de DO respectives ($OD_{IgG \text{ Serum}}$, $OD_{IgG \text{ CSF}}$) et vérifier que ces valeurs soient comprises entre 0,000 and 3,000.

IMPORTANT: Si la DO du sérum ($OD_{IgG\ Serum}$) ou du LCR ($OD_{IgG\ CSF}$) n'est pas comprise dans l'intervalle de DO indiqué ci-dessus, l'échantillon doit être retesté en utilisant une dilution plus forte à l'aide du Diluant R7 fourni dans la trousse. Après dilution, la DO de l'échantillon doit être comprise entre 0,000 et 3,000. Dans ce cas, tenir compte du facteur de dilution utilisé pour le calcul de l'Index de Synthèse Intrathécale des IgG (Cf. ci-dessous).

Pour chaque sérum testé, recueillir les données suivantes :

- Albumine (g/l) = Albumin_{Serum}
- IgG Totales (g/l) = Total IgG_{Serum}

Pour chaque LCR testé, recueillir les données suivantes :

- Albumine (mg/l) = Albumin_{CSF}
- IgG Totales (mg/l) = Total IgG_{CSF}

En appliquant les formules ci-dessous, calculer les différents quotients :

- $Q_{Alb} = \text{Albumin}_{CSF} / [\text{Albumin}_{Serum} \times 1000]$
- $Q_{lim(IgG)} = 0,93 \times [Q_{Alb}^2 + (6 \times 10^{-6})]^{1/2} - 1,7 \times 10^{-3}$
- $Q_{IgG} = \text{Total IgG}_{CSF} / [\text{Total IgG}_{Serum} \times 1000]$
- $Q_{Spec(IgG)} = OD_{IgG\ CSF} / [OD_{IgG\ Serum} \times 50,5]$

IMPORTANT: Si, par exemple, le LCR et le sérum ont été respectivement dilués au 1/5 et au 1/10 pour être compris entre 0,000 et 3,000 de DO, il faut multiplier la valeur de DO du LCR ($OD_{IgG\ CSF}$) par 5 et la valeur de DO du sérum ($OD_{IgG\ Serum}$) par 10 avant d'appliquer le calcul de la formule du $Q_{Spec(IgG)}$.

Déterminer l'Index Anticorps IgG (AI IgG) à l'aide de l'une des deux formules suivantes :

- $AI_{IgG} = Q_{Spec(IgG)} / Q_{IgG}$ [si $Q_{IgG} < Q_{lim(IgG)}$]

Ou

- $AI_{IgG} = Q_{Spec(IgG)} / Q_{lim(IgG)}$ [si $Q_{IgG} > Q_{lim(IgG)}$]

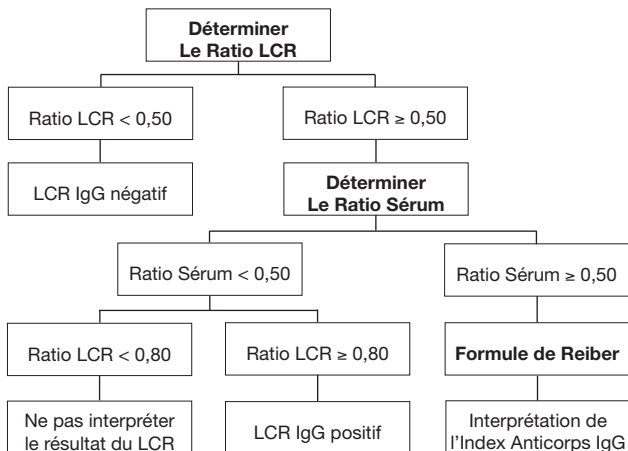
8.6. INTERPRÉTATION DE L'INDEX ANTICORPS (AI_{IgG}) POUR LA DÉTERMINATION DE LA SYNTHÈSE INTRATHÉCALE

La formule de Reiber pour la détermination de l'Index Anticorps IgG ne s'applique pas dans les situations suivantes :

- Ratio LCR < 0,50 (*)
- Ratio LCR ≥ 0,50 mais avec un Ratio sérum / plasma < 0,50 (*)

(*) Ratio = DO / moyenne R4

Interpréter les résultats du LCR selon l'algorithme décrit ci-dessous :



Algorithme de détermination de l'Index Anticorps IgG à l'aide du kit *Platelia™ Lyme IgG*

La synthèse intrathécale des anticorps IgG est confirmée lorsque l'Index Anticorps IgG est supérieur à 1,30. Il n'y a pas synthèse intrathécale des anticorps IgG lorsque l'Index Anticorps IgG est supérieur à 0,70 et inférieur ou égal à 1,30. Le résultat doit être considéré comme non valide lorsque l'Index Anticorps IgG est inférieur ou égal à 0,70 (erreur de procédure, sérum et LCR non recueillis le même jour, contamination du LCR, etc ...)

Interprétation de l'Index de Synthèse Intrathécale (AI _{IgG})	
Positif	AI _{IgG} > 1,30
Négatif	0,70 < AI _{IgG} ≤ 1,30
Résultat non valide	AI _{IgG} ≤ 0,70

8.7. EXPERTISE DES CAUSES D'ERREUR

L'origine des réactions non validées ou non reproductibles est souvent en relation avec les causes suivantes :

- Lavage insuffisant des microplaques.
- Contamination des échantillons négatifs par un sérum ou un plasma contenant un titre élevé d'anticorps.
- Contamination ponctuelle de la solution de révélation par des agents chimiques oxydants (eau de javel, ions métalliques...).
- Contamination ponctuelle de la Solution d'Arrêt.

8.8. EXEMPLE DE CALCUL (SÉRUM OU PLASMA)

Note: Les données suivantes ne constituent qu'un exemple et ne doivent pas être utilisées à la place des données obtenues par l'utilisateur.

Contrôles et Echantillons de patients	DO (450/620 nm)	Ratio	Résultat
R3	0,144	0,29	Négatif
R4	0,502	/	/
R4	0,498	/	/
R5	1,440	2,88	Positif
Echantillon 1	1,650	3,30	Positif
Echantillon 2, etc...	0,120	0,24	Négatif

- Valeur Seuil :
 - $VS = (0,502+0,498)/2 = 0,500$
- Valeurs des densités optiques :
 - $DO VS = 0,500$ ($N > 0,200$)
 - $DO R4 Repl.1 = 0,502$ ($0,80 DO VS < DO R4 Repl.1 < 1,20 DO VS$)
 - $DO R4 Repl.2 = 0,498$ ($0,80 DO VS < DO R4 Repl.2 < 1,20 DO VS$)
- Rapports des densités optiques :
 - $Ratio R3 = 0,29$ ($N < 0,5$)
 - $Ratio R5 = 2,88$ ($N > 2,0$)
- Contrôle de qualité : Conforme

9- PERFORMANCES

9.1. PRÉVALENCE

Afin de déterminer la prévalence des anticorps IgG dirigés contre *Borrelia burgdorferi* sensu lato dans le sérum humain, un panel de 295 échantillons issus de donneurs de sang du Nord de la France a été testé. Les résultats obtenus sont les suivants : 291 sérums négatifs, 1 sérum douteux et 3 sérums positifs. La prévalence mesurée à l'aide du dosage Platelia™ Lyme IgG s'établit donc à 1,02% (3/295).

9.2. SPÉCIFICITÉ

9.2.1 Spécificité en zone non endémique

La spécificité a été déterminée sur un panel de 279 sérums recueillis auprès de donneurs de sang vivant en zone non endémique dans le nord de la France. Ces échantillons ont été sélectionnés sur la négativité des résultats obtenus à l'aide d'une trousse EIA commercialisée en Europe (marquage CE) et servant de référence.

9.2.2 Spécificité en zone endémique

La spécificité a également été déterminée sur un panel de 193 sérums recueillis auprès de donneurs de sang vivant en zone d'endémie dans l'est de la France, lesquels ne présentaient aucun antécédent pouvant évoquer une maladie de Lyme (absence de signes cliniques en faveur d'une borréliose, absence de notion de piqûre de tique). Ces échantillons ont été sélectionnés sur la négativité des résultats obtenus à l'aide d'une trousse EIA commercialisée en Europe (marquage CE) et servant de référence.

Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

Panel de sérums	Négatif	Douteux ⁽¹⁾	Positif ⁽²⁾	Spécificité
Zone non endémique (n=279) [IC 95%] ⁽³⁾	278	1	0	100,0% (278/278) [98,9%-100,0%]
Zone endémique (n=193) [IC 95%]	190	2	1	99,5% (190/191) [97,1%-99,9%]

⁽¹⁾ Les résultats douteux ont été exclus des calculs de spécificité.

⁽²⁾ L'échantillon trouvé positif avec le test Platelia™ Lyme IgG a été trouvé négatif en Western-blot.

⁽³⁾ IC 95% : intervalle de confiance à 95%.

9.3. SENSIBILITÉ

La sensibilité du dosage Platelia™ Lyme IgG a été étudiée en complémentarité de celle du dosage Platelia™ Lyme IgM (Réf. 72951) sur une population de 70 échantillons de patients atteints de diverses formes de la maladie de Lyme à différents stades cliniques. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant, et sont comparés avec ceux fournis par des trousse EIA commercialisées en Europe (marquage CE) et servant de référence :

Stade Clinique	Nombre de sérums	Platelia™ Lyme ⁽¹⁾			Référence Europe ⁽¹⁾
		IgG	IgM	IgG + IgM	IgG + IgM
Erythème migrant (Stade I) [IC 95%]	17	66,7% [38,4%-88,2%]	58,8% [32,9%-81,6%]	82,4% [56,6%-96,2%]	93,3% [68,1%-99,8%]
Neuroborréliose (Stade II) [IC 95%]	33	96,9% [83,4%-99,9%]	36,7% [19,9%-56,1%]	96,9% [83,4%-99,9%]	97,0% [84,2%-99,9%]
Acrodermatite chronique atrophiante (Stade III) [IC 95%]	5	100,0% [54,9%-100,0%]	20,0% [0,05%-71,6%]	100,0% [54,9%-100,0%]	100,0% [54,9%-100,0%]
Arthrite de Lyme (Stade III) [IC 95%]	15	100,0% [81,9%-100,0%]	0,0% [0,0%-18,1%]	100,0% [81,9%-100,0%]	100,0% [81,9%-100,0%]

⁽¹⁾ Les résultats douteux ont été exclus des calculs de sensibilité.

La sensibilité du dosage Platelia™ Lyme IgG a été également étudiée sur un panel documenté fourni par le CDC (Center for Disease Control) et a été comparée avec celles obtenues à l'aide de trousse EIA commercialisées en Europe (marquage CE) et aux USA (approuvées FDA). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Stade Clinique	Nombre de sérums	Platelia™ Lyme ⁽¹⁾			Référence Europe ⁽¹⁾	Référence USA ⁽¹⁾
		IgG	IgM	IgG + IgM	IgG + IgM	IgG + IgM
Erythème migrant [IC 95%]	28	38,5% [20,2%-59,5%]	73,7% [48,8%-90,9%]	86,4% [65,1%-97,1%]	70,4% [49,8%-86,3%]	87,0% [66,4%-97,2%]
Arthrite / Arthralgie [IC 95%]	6	100,0% [60,7%-100,0%]	40,0% [5,3%-85,3%]	100,0% [60,7%-100,0%]	100,0% [60,7%-100,0%]	100,0% [60,7%-100,0%]
Non déterminé [IC 95%]	4	100,0% [36,8%-100,0%]	100,0% [0,05%-100,0%]	100,0% [47,3%-100,0%]	100,0% [19,4%-99,9%]	100,0% [36,8%-100,0%]

⁽¹⁾ Les résultats douteux ont été exclus des calculs de sensibilité.

9.4. CALCUL DE L'INDEX ANTICORPS IgG POUR LA DÉTERMINATION DE LA SYNTHÈSE INTRATHÉCALE

Une évaluation externe a été réalisée sur 104 paires d'échantillons de patients sans Neuroborréliose de Lyme (n=19), ou avec une Neuroborréliose de Lyme suspectée (n=29), probable (n=36) ou confirmée (n=20). Les résultats détaillés sont présentés pour chaque catégorie ci-dessous :

Statut	Total	LCR non interprétable	LCR négatif	LCR positif	Index AI IgG Positif	Index AI IgG Négatif	Index AI IgG Invalide
NBL non confirmée	19	0	18	1	0	0	0
NBL suspectée	29	0	11	0	14	4	0
NBL probable	36	1	6	2	22	4	1
NBL confirmée	20	0	0	0	17	2	1

Statut	Total	Positif (Ratio LCR ou AI IgG)	Négatif (Ratio LCR ou AI IgG)	Non interprétable (Ratio LCR ou AI IgG)
NBL non confirmée	19	1 (5,3%)	18 (94,7%)	0 (0,0%)
NBL suspectée	29	14 (48,3%)	15 (51,7%)	0 (0,0%)
NBL probable	36	24 (66,7%)	10 (27,8%)	2 (5,5%)
NBL confirmée	20	17 (85,0%)	2 (10,0%)	1 (5,0%)

9.5. PRÉCISION

- Précision intra-essai (répétabilité) :

Afin d'évaluer la répétabilité intra-essai, un échantillon négatif, un échantillon douteux et deux échantillons positifs ont été testés à 30 reprises dans une même série. Le ratio (DO échantillon / VS) a été déterminé pour chaque échantillon. La moyenne des ratios, la déviation standard (DS) et le coefficient de variation (%CV) pour chaque échantillon sont donnés dans le tableau suivant.

Précision intra-essai (répétabilité)

N=30	Echantillon Négatif	Echantillon douteux	Echantillon positif faible	Echantillon positif fort
	Ratio (DO Echantillon / Valeur Seuil)			
Moyenne	0,10	0,95	1,38	6,31
DS	0,007	0,082	0,116	0,134
% CV	6,0%	8,6%	8,4%	2,1%

- Précision inter-essai (reproductibilité) :

Afin d'évaluer la reproductibilité inter-essai, un échantillon négatif, un échantillon douteux et deux échantillons positifs ont chacun été testés en duplicate, dans deux séries par jour, sur une période totale de 20 jours. Le ratio (DO échantillon / VS) a été déterminé pour chaque échantillon. La moyenne des ratios, la déviation standard (DS) et le coefficient de variation (%CV) pour chaque échantillon sont donnés dans le tableau suivant.

Précision inter-essai (reproductibilité)

N=80	Echantillon Négatif	Echantillon douteux	Echantillon positif	Echantillon positif fort
	Ratio (DO Echantillon / Valeur Seuil)			
Moyenne	0,19	0,85	3,92	6,67
DS	0,032	0,115	0,335	0,650
% CV	17,3%	14,8%	8,4%	9,7%

9.6. RÉACTIVITÉ CROISÉE

384 échantillons sanguins ayant des caractéristiques susceptibles d'aboutir à des réactions non spécifiques ont été testés avec le test Platelia™ Lyme IgG. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Panel	Nombre d'échantillons	Douteux ⁽¹⁾	Positifs	% de réactions croisées
Syphilis	83	4	1	1,3% ⁽²⁾
CMV	50	1	1	2,0% ⁽²⁾
EBV	22	1	0	0,0%
Leptospirose	15	1	1	7,1% ⁽²⁾
Malaria	20	1	1	5,3% ⁽²⁾
Anticorps anti-nucléaires (ANA)	22	0	0	0,0%
Anticorps hétérophiles (HAMA)	10	0	0	0,0%
Facteur rhumatoïde	44	1	1	2,3% ⁽²⁾
HSV	30	0	0	0,0%
Toxoplasmose	38	0	0	0,0%
Rubéole	10	0	0	0,0%
Rougeole	10	0	0	0,0%
Oreillons	10	0	0	0,0%
HIV	10	0	0	0,0%
VZV	10	0	0	0,0%
TOTAL	384	9	5	1,33%

⁽¹⁾ Les résultats douteux ont été exclus des calculs de réactions croisées.

⁽²⁾ Non significativement différent du pourcentage de prévalence en zone endémique (test de Fisher, $p > 0,05$).

Les 2 sérums CMV et Malaria trouvés positifs avec le dosage Platelia™ Lyme IgG étaient également positifs avec la trousse EIA commercialisée en Europe (marquage CE), mais n'ont pas été confirmés par méthode Western-Blot.

Le sérum Facteur rhumatoïde trouvé positif avec le dosage Platelia™ Lyme IgG a été confirmé positif avec la trousse EIA et par méthode Western-Blot.

Le sérum leptospirose positif avec le dosage Platelia™ Lyme IgG a été trouvé douteux avec la trousse EIA et a été confirmé négatif par méthode Western-Blot.

Le sérum syphilis trouvé positif avec le dosage Platelia™ Lyme IgG a été confirmé négatif avec la trousse EIA et par méthode Western-Blot.

10- LIMITES D'UTILISATION

Le diagnostic d'infection par *Borrelia burgdorferi* ne peut être définitivement établi que sur un ensemble de données cliniques et biologiques. Le résultat d'un seul test de recherche des anticorps IgG anti-*Borrelia burgdorferi* ne constitue pas en soi une preuve suffisante pour poser le diagnostic d'infection par *Borrelia burgdorferi* sensu lato. En cas de sérologie positive ou douteuse, il est recommandé de tester les échantillons par une méthode de confirmation de type Western-Blot (12).

Le diagnostic de Neuroborréliose de Lyme ne peut être établi que sur la base d'une confrontation des données cliniques et biologiques du patient. Les résultats obtenus à partir du LCR et leur interprétation à l'aide du présent protocole ne doivent pas être considérés isolément et ne constituent pas en soi une preuve suffisante pour établir le diagnostic.

Le calcul de l'Index Anticorps IgG à l'aide de la formule de Reiber à l'aide du présent protocole n'est pas valable lorsque toutes les données biologiques n'ont pas été renseignées (Albumin_{Serum}, Albumin_{CSF}, Total IgG_{Serum}, Total IgG_{CSF}, OD_{IgG Serum}, OD_{IgG CSF}). Il est également important d'utiliser les bonnes unités tel que décrit dans les formules ci-dessus.

Ce protocole est applicable aux anticorps anti-*Borrelia* IgG uniquement. Il n'a pas été évalué pour les anticorps anti-*Borrelia* de type IgM, ni pour aucun autre type d'anticorps IgG. Ce protocole est adapté pour les tests sur LCR uniquement. Aucun autre liquide biologique (liquide synovial ...) n'a été évalué.

11- CONTROLE QUALITE DU FABRICANT

Tous les produits fabriqués et commercialisés par la société Bio-Rad sont placés sous un système d'assurance qualité de la réception des matières premières jusqu'à la commercialisation des produits finis. Chaque lot de produit fini fait l'objet d'un contrôle de qualité et n'est commercialisé que s'il est conforme aux critères d'acceptation. La documentation relative à la production et au contrôle de chaque lot est conservée par le fabricant.

12- RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Aguero-Rosenfeld, M. E., Wang, G., Schwartz, I., Wormser, G.** 2005. Diagnosis of Lyme borreliosis. Clin. Microbiol. Rev. **18**: 484-509.
2. **Bednarova, J.** 2006. Cerebrospinal-Fluid profile in neuroborreliosis and its diagnosis significance. Folia Microbiol. **51**: 599-603.
3. **Burgdorfer, W., Barbour, A. G., Hayes, S. F., Benach, J. L., Grunwaldt, E., Davis, J.P.** 1982. Lyme disease – a tick-borne spirochetosis? Science. **216**: 1317-1319.
4. **Center for Disease Control and Prevention.** 2004. Lyme disease – United States, 2001-2002. Morb. Mortal. Wkly. Rep. **53**: 365-369.

5. **Deisenhammer F., Bartos A., Egg R., Gilhus N.E., Giovannoni G., Rauer S., Sellebjerg F.** 2006. Guidelines on Routine Cerebrospinal Fluid Analysis. Report from EFNS Task Force. *Europ. Journ. of Neurol.*
6. **Hubalek, Z., Halouzka, J.** 1997. Distribution of *Borrelia burgdorferi* sensu lato genomic groups in Europe, a review. *Eur. J. Epidemiol.* **13**: 951-957.
7. **Reed, K. D.** 2002. Laboratory testing for Lyme disease: possibilities and practicalities. *J. Clin. Microbiol.* **40**: 319-324.
8. **Reiber H., Lange P.** 1991. Quantification of Virus-Specific Antibodies in Cerebrospinal Fluid and Serum: Sensitive and Specific Detection of Antibody Synthesis in Brain. *Clin. Chem.* **37**: 1153-1160.
9. **Rudenko, N., Golovchenko, M., Grubhoffer, L.** 2011. Updates on *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex with respect to public health. *Ticks Tick Borne Dis.* **2(3)**: 123-128.
10. **Stanek, G., Strle, F.** 2003. Lyme borreliosis. *Lancet.* **362**: 1639-1647.
11. **Wang, G., Van Dam, A. P., Spanjaard, L., Dankert, J.** 1999. Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. *Clin. Microbiol. Rev.* **12**: 633-653.
12. **Wilske, B.** 2003. Diagnosis of Lyme borreliosis in Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.* **3**: 215-227.

- (BG)** • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CZ)** • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE)** • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK)** • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE)** • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN)** • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES)** • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI)** • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimestä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR)** • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.
- (GR)** • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR)** • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU)** • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT)** • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (LT)** • Šiame produkto yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai daliai. Elgtis atsargiai.
- (MT)** • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-animali. Uża b'attenzjoni.
- (NL)** • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO)** • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.
- (PL)** • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT)** • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO)** • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrati-l cu grijă.
- (SE)** • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI)** • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK)** • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.



H314-H317
P280-P305+P351+P338-
P301+P330+P331-P303+P361+P353-
P333+P313-P501

(BG)

опасно

Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергична кожна реакция.

Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. **ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ:** Промивайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължавайте да промивате. **ПРИ ПОГЛЪЩАНЕ:** изплакнете устата. **НЕ** предизвиквайте повръщане. **ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА** (или косата): Незабавно свалете цялото облекло/предпазно облекло. Облейте кожата с вода/ вземете душ При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/ помощ. Изхвърлете съдържанието/контейнера в съответствие с местните/регионалните/ националните/международните разпоредби.

(CZ)

Nebezpečí

Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ ochranné brýle/obličejový štít. **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ:** Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyměňte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vymýt snadno. Pokračujte ve vyplachování. **PŘI ZOŽITÍ:** Vypláchněte ústa. **NEVYVOLÁVEJTE** zvracení. **PŘI STYKU S KÚŽÍ** (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/ospřchujte. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Obsah/nádobu likvidujte v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

(DE)

Gefahr

Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/ Gesichtsschutz tragen. **BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN:** Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. **BEI VERSCHLUCKEN:** Mund ausspülen. **KEIN** Erbrechen herbeiführen. **BEI KONTAKT MIT DER HAUT** (oder dem Haar): Alle

beschmutzten, getränkten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Entsorgung des Inhalts / des Behälters gemäß den örtlichen / regionalen / nationalen/ internationalen Vorschriften.

(DK)

Fare

Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse **VED KONTAKT MED ØJNENE:** Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. **I TILFÆLDE AF INDTAGELSE:** Skyl munden. Fremkald IKKE opkastning. **VED KONTAKT MED HUDEN** (eller håret): Tilmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl/ brus huden med vand. Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. Bortskaffelse af indholdet/ beholderen i henhold til de lokale/regionale/ nationale/internationale forskrifter.

(EE)

Ettevaatust

Põhjustab rasket nahasõõvitust ja silmakahjustusi. Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/ kaitsemaski. **SILMA SATTUMISE KORRAL:** loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutatakse ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veel kord. **ALLANEELAMISE KORRAL:** loputada suud. **MITTE** kutsuda esile oksendamist. **NAHALE** (või juustele) **SATTUMISE KORRAL:** võtta viivitamata kõik saastunud rõivad seljast. Loputada nahka veega/loputada duši all. Nahaärrituse või _obe korral: pööruda arsti poole. Sisu/konteineri käitlus vastavuses kohalike/regionaalsete/rahvuslike/ rahvusvaheliste nõuetega.

(EN)

Danger

Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction. Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection. **IF IN EYES:** Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing. **IF SWALLOWED:** rinse mouth. Do NOT induce vomiting. **IF ON SKIN** (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Dispose of contents/ container in accordance with local/regional/national/ international regulations.

(ES)

Peligro

Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Llevar guantes que aislen del frío/gafas/máscara. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE INGESTIÓN: Enjuagarse la boca. NO provocar el vómito. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL (o el pelo): Quitarse inmediatamente las prendas contaminadas. Aclararse la piel con agua o ducharse. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.

(FI)

Vaara

Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmisuojainta/kasvonsuojainta. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhdo huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piilolinssit, edical voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. JOS KEMIKAALIA ON NIELTY: Huuhdo suu. Ei saa oksennuttaa. JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin): Riisu saastunut vaatetus välittömästi. Huuhdo/suihkuta iho vedellä. Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa: Hakeudu lääkäriin. Säilytä säiliö(t) noudattaen paikallisia/alueellisia/kansallisia/kansainvälisiä määräyksiä.

(FR)

Danger

Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. EN CAS D'INGESTION: rincer la bouche. NE PAS faire vomir. EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Éliminer le contenu/réceptacle conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

(GR)

Κίνδυνος

Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για ταμάτια/πρόσωπο. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΑ ΜΑΤΙΑ: Ξεπλύνετε προσεκτικά με νερό για αρκετά λεπτά. Εάν υπάρχουν φακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλύνετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Ξεπλύνετε το στόμα. ΜΗΝ προκαλέσετε εμετό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ

ME TO ΔΕΡΜΑ (ή με τα μαλλιά): Αφαιρέστε αμέσως όλα τα μολυσμένα ενδύματα. Ξεπλύνετε το δέρμα με νερό/στο ντους. Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε/επιστημονικό Απορριπτή τα περιεχόμενα/δοχείο σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

(HR)

Opasnost

Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži. Nositi zaštitne rukavice/zaštitnu odijelovu/zaštitu za oči/zaštitu za lice. U SLUČAJU DODIRA S OČIMA: oprezno ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktne leće ukoliko ih nosite i ako se one lako uklanjaju. Nastaviti ispiranje. AKO SE PROGUTA: isprati usta. NE izazivati povraćanje. U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM (ili kosom): odmah ukloniti/skinuti svu zagananu odjeću. Isprati kožu vodom/tuširanjem. U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Odložite sadržaje /spremnik u skladu s lokalnim/regionalnim/nacionalni/međunarodnim odredbama.

(HU)

Veszély

Smarkály nudegina odq ir pažeidžia akis. Allergias bõrreakciõt válthat ki. Védõkesztyõt/védõruha/szemvédõ/arcvédõ használatá kötelezõ. SZEMBE KERÜLÉS esetén: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. LENYELÉS ESETÉN: a szájat ki kell öblíteni. TILOS hánytatni. HA BÕRRE (vagy hajra) KERÜL: Az õsszes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bõrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás. Bõrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. Az edény tartalmát / a tartályt a helyi/regionális/nemzeti/nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell hulladékként elhelyezni.

(IT)

Pericolo

Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO DI INGESTIONE: sciacquare la bocca. NON provocare il vomito. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): togliersi di dosso immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/ fare una doccia. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Smettere il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

(LT)

Pavojinga

Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Gali sukelti alerginę odos reakciją.

Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemones. PATEKUS Į AKIS: Kelias minutes atsargiai plauti vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. PRARIJUS: išskalauti burną. NESKATINTI vėmimo. PATEKUS ANT ODOS (arba plaukų): Nedelsiant nuvilkti/pašalinti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu/čiurkšle. Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. Turinį/talpa įšpilti (išmesti) - šalinti pagal vietines / regionines / nacionalines / tarptautines taisykles.

(NL)

Gevaar

Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen. NA INSLIKKEN: de mond spoelen — GEEN braken opwekken. BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken — huid met water afspoelen/afdouchen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. De inhoud en de verpakking verwerken volgens de plaatselijke/regionale/nationale/ internationale voorschriften.

(NO)

Fare

Forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake allergiske hudreaksjoner. Bruk vernehansker/vermeklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNE: Skyll forsiktig med vann i opptil flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser såfremt dette er lett mulig. Fortsett skyllingen. VED SVELGING: Skyll munnen. IKKE fremkall brekninger. VED HUDKONTAKT (eller kontakt med hår): Alle tilsølte klær må fjernes straks. Vask/dusj huden med vann. Ved hudirritasjon eller -utslett: Kontakt / tilkall lege. Innholdet / emballasjen skal avhendes i henhold til de lokale / regionale / nasjonale / internasjonale forskrifter.

(PL)

Niebezpieczeństwo

Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. Może powodować reakcję alergiczną skóry. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Nadal płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU POŁKNIECIA: wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów. W PRZYPADKU KONTAKTU

ZE SKÓRĄ (lub z włosami): Natychmiast usunąć/zdjąć całą zanieczyszczoną odzież. Spłukać skórę pod strumieniem wody/prysznicem. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Zawartość / pojemnik usuwać zgodnie z przepisami miejscowymi / regionalnymi / narodowymi / międzynarodowymi.

(PT)

Perigo

Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar uma reacção alérgica cutânea.

Usar luvas de protecção/vestuário de protecção/protecção ocular/protecção facial. SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar. EM CASO DE INGESTÃO: enxaguar a boca. NÃO provocar o vômito. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE (ou o cabelo): despir/retirar imediatamente toda a roupa contaminada. Enxaguar a pele com água/tomar um duche. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com a legislação local/regional/nacional/internacional.

(RO)

Pericol

Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/chipament de protecție a feței. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. ÎN CAZ DE ÎNGHIȚIRE: clătiți gura. NU provocați vomă. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): scoateți imediat toată îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă/fațeti duș. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul. Aruncați conținutul/containerul în acord cu regulamentele locale/regionale/naționale/internaționale.

(SE)

Fara

Orsakar allvariga frätskador på hud och ögon. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID FÖRTÄRING: Skölj munnen. Framkalla INTE kräkning. VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Innehållet / behållaren avfallshanteras enligt lokala / regionala / nationella / internationella föreskrifter.

(SI)**Nevarno**

Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči.

Lahko povzroči alergijski odziv kože.

Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za

oči/zaščito za obraz. PRI STIKU Z OČMI: previdno

izpirajte z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne

leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav.

Nadaljujte z izpiranjem. PRI ZAUŽITJU: izprati usta.

NE izzvati bruhanja. PRI STIKU S KOŽO (ali lasmi):

takoj odstraniti/sleči vsa kontaminirana oblačila.

Izprati kožo z vodo/prho. Če nastopi draženje kože

ali se pojavi izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč/

oskrbo. Vsebino/vsebnik odstranite v skladu z

lokalnimi/regionalnimi/narodnimi/mednarodnimi

predpisi.

(SK)**Nebezpečnostvo**

Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor.

Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.

Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné

okuliare/ochranu tváre. PO ZASIAHNUTÍ OČÍ:

Niekoľko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak

používate kontaktné šošovky a ak je to možné,

odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. PO

POŽITÍ: vypláchnite ústa. Nevyvolávajte zvracanie.

PRI KONTAKTE S POKOŽKOU (alebo vlasmi):

Odstráňte/vyzlečte všetky kontaminované časti

odevu. Pokožku ihneď opláchnite vodou/sprchou.

Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa

vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/

starostlivosť. Zneškodnenie obsahu/obalu v súlade

s miestnymi/oblastnými/národnými/medzinárodnými

nariadeniami.

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré

92430 Marnes-la-Coquette France

Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00

Fax.: +33 (0) 1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2016/10

883713