Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab

1 plaque - Σ 96 REF 72386
5 plaques - Σ 480 REF 72388

TROUSSE POUR LA DETECTION DE L'ANTIGENE VIH P24 ET ANTICORPS ANTI-VIH-1 ET ANTI-VIH-2 DANS LE SERUM/PLASMA HUMAIN PAR TECHNIQUE IMMUNOENZYMATIQUE

IVD CE 0459

883637 – 2013/10

BIO-RAD

TABLE DES MATIERES

1. UTILISATION PREVUE 2

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST 2

3. PRINCIPE DU TEST 2

4. REACTIFS 3

5. AVERTISSEMENTS ET MESURE DE PRÉCAUTION 4

6. ÉCHANTILLONS 6

7. MODE OPÉRATOIRE 6

8. LIMITES DU TEST 10

9. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES 11

10. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES 14

1. UTILISATION PREVUE

Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab est une technique immuno-enzymatique qualitative basée sur la détection de l'antigène VIH p24 et des anticorps anti-VIH-1 (groupes M et O) et anti-VIH-2 dans le sérum ou le plasma humain. Cette trousse peut être utilisée à la fois pour un dépistage Ag VIH et anticorps anti-VIH.

2. RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est une maladie infectieuse d'origine virale se traduisant par un déficit profond de l'immunité cellulaire.
Deux types de virus apparentés au groupe des lentivirus ont été isolés à partir des lymphocytes de patients atteints de SIDA ou de ses prodromes. Le premier nommé VIH-1 a été isolé en France, puis aux Etats-Unis. Le second nommé VIH-2 a été isolé chez deux malades d'origine africaine et s'est révélé être responsable d'un nouveau foyer de SIDA en Afrique de l'Ouest.
Les connaissances sur la variabilité génétique des souches des virus VIH ont été acquises par le séquençage des gènes GAG, POL et ENV des souches représentatives de chacun des sous-types.
Les virus VIH-1 sont divisés en 2 groupes : le groupe M (comprenant 9 sous-types (A à I) et le groupe O. Le virus VIH-2 comprend 5 sous-types. La répartition géographique des différents sous-types est maintenant assez bien définie. Certains variants VIH-1 n'ont que 70% d'homologie pour les gènes GAG et POL avec les principaux isolats et seulement 50% pour le gène ENV; ces différences peuvent expliquer l'échec du diagnostic de l'infection chez certains patients.
Les différentes souches du virus VIH-2 présentent des communautés antigéniques avec le virus simien SIV au niveau de toutes les protéines (protéines d'enveloppe et protéines internes : hétérologie = 30%), mais présentent moins de 40% d'homologie avec les protéines d'enveloppe du virus VIH-1.
Les antigènes VIH et les anticorps apparaissent et sont détectables à différents stades des séroconversions et de l'infection. Le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab permet la détection simultanée des anticorps anti-VIH-1 (groupes M et O) et anti-VIH-2, ainsi que des antigènes VIH (voir également limites de la méthode).

3. PRINCIPE DU TEST

Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab est une trousse immuno-enzymatique basée sur le principe sandwich pour la détection de l'antigène VIH et des différents anticorps associés aux virus VIH-1 et/ou VIH-2, dans le sérum ou plasma humain.
La phase solide est préparée avec :

- des anticorps monoclonaux dirigés contre l'antigène p24 du VIH-1.
- des antigènes purifiés : une protéine gp 160 recombinée, un peptide synthétique mimant un épitope spécifique du virus VIH-1 groupe O totalement artificiel (c'est à dire codé par aucun virus existant) ainsi qu'un peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine d'enveloppe du virus VIH-2.

Les conjugués sont préparés avec :

- des anticorps polyclonaux biotinylés contre l'Ag VIH (conjugué 1).
- de la streptavidine et des antigènes VIH marqués à la peroxydase (peptides gp 41 et gp 36 mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des virus VIH-1 et VIH-2 et le même peptide synthétique mimant un épitope spécifique du virus VIH-1 groupe O totalement artificiel comme celui utilisé dans la phase solide) (conjugué 2).

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

1. Le conjugué 1 (anticorps polyclonal anti-p24 du VIH-1 biotinylé) est distribué dans toutes les cupules de la microplaque
2. Les sérums à étudier, ainsi que les contrôles sont distribués dans les cupules :
   - Les antigènes VIH éventuellement présents se fixent sur les anticorps monoclonaux de la phase solide et forment des complexes avec les anticorps biotinylés du conjugué 1
   - Si des anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.
   - Le dépôt du conjugué 1 et des échantillons est validé par un changement de couleur, du jaune-vert au bleu.
3. Après incubation à 37°C, puis lavage, le conjugué 2 est distribué :

- La streptavidine réagit avec les complexes Ac-Ag-Ac biotinylés éventuellement fixés sur la phase solide.
- Les antigènes VIH-1 et VIH-2 purifiés, marqués à la peroxydase se lient à leur tour aux IgG et/ou IgM et/ou IgA, retenus par la phase solide.

4. Après incubation à température ambiante (18-30°C) la fraction de conjugué 2 restée libre est éliminée par lavage. Après une nouvelle incubation à température ambiante (18-30°C) la présence de l'enzyme immobilisée sur les complexes est révélée par la modification de la coloration du substrat.
5. Après arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450/620-700 nm. L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'antigène VIH et/ou d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2.

4. REACTIFS

4.1. Description

Identification de l'étiquetage		Description	Présentation/Préparation 72386	72388
R1	**Microplate**	**Microplaque** 12 barrettes de 8 cupules sensibilisées avec des anticorps monoclonaux (souris) anti-p24 du VIH-1 et des antigènes VIH-1 et VIH-2 purifiés. ***Identifiant spécifique = 53***	1 plaque Prêt à l'emploi	5 plaques Prêt à l'emploi
R2	**Concentrated Washing Solution (20X)**	**Solution de lavage concentrée (20X)** Tampon Tris NaCl pH 7,4. Conservateur : ProClin™ 300 (0,04%)	1 flacon 70 ml A diluer	1 flacon 235 ml A diluer
R3	**Negative control**	**Contrôle négatif** Plasma humain inactivé par chauffage, négatif en antigène HBs et VIH et en anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Conservateur : Azide de Sodium (< 0,1%)	1 flacon 2,5 ml Prêt à l'emploi	1 flacon 2,5 ml Prêt à l'emploi
R4	**HIV Ab positive control**	**Contrôle positif anticorps VIH** Diluant synthétique contenant du plasma humain inactivé par chauffage, positif en anticorps anti-VIH, négatif en antigène HBset en anticorps anti-VHC. Conservateur : ProClin™ 300 (< 0,1%)	1 flacon 1 ml Prêt à l'emploi	1 flacon 1 ml Prêt à l'emploi
R5	**HIV Ag positive control**	**Contrôle positif antigène VIH** Diluant synthétique contenant de l'antigène VIH-1 purifié inactivé en présence d'un agent dissociant. Conservateur : ProClin™ 300 (< 0,1%)	1 flacon 1 ml Prêt à l'emploi	1 flacon 1 ml Prêt à l'emploi
R6	**Conjugate 1**	**Conjugué 1** Anticorps polyclonaux (mouton) biotinylés anti-p24 VIH-1 coloré en jaune-vert. Conservateur : ProClin™ 300 (0,5%)	1 flacon 10 ml Prêt à l'emploi	2 flacons 2 x 10 ml Prêt à l'emploi
R7a	**Conjugate 2**	**Conjugué 2** Streptavidine et antigènes VIH-1 et VIH-2 purifiés marqués à la peroxydase lyophilisé. Conservateur : ProClin™ 300 (< 0,1%)	1 flacon *Quantité suffisante pour* 12,5 ml A reconstituer	2 flacons *Quantité suffisante pour* 2 x 30 ml A reconstituer

R7b	**Conjugate 2 diluent**	**Diluant du conjugué 2** Solution de lait écrémé coloré en rouge. Conservateur : ProClin™ 300 (0,5%)	1 flacon 12,5 ml A reconstituer	2 flacons 2 x 30 ml A reconstituer
R8	**Substrate buffer**	**Tampon substrat** Solution d'acide citrique et d'acétate de Sodium pH 4,0, contenant 0,015% d'H_2O_2 et 4% de dimethyl sulfoxide DMSO.	1 flacon 60 ml A reconstituer	2 flacons 2 x 60 ml A reconstituer
R9	**Chromogen: TMB solution (11x)**	**Chromogène : solution TMB** Solution contenant de la 3.3', 5.5' tetramethyl-benzidine (TMB)	1 flacon 5 ml A reconstituer	2 flacons 2 x 5 ml A reconstituer
R10	**Stopping solution**	**Solution d'arrêt** Solution d'acide sulfurique (H_2SO_4 1N)	1 flacon 28 ml Prêt à l'emploi	3 flacons 3 x 28 ml Prêt à l'emploi

4.2. Conditions de conservation et de manipulation

La trousse doit être gardée à +2-8°C. Chaque élément de la trousse conservé à +2-8°C peut être utilisé jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le coffret (sauf indication spécifique).
Après ouverture et en l'absence de contamination, les réactifs R2, R3, R4, R6, R7, R8, R9 et R10 conservés à +2-8°C sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur l'étiquette.

Identification	Conservation
R1	Après ouverture du sachet sous vide, les barrettes conservées à +2-8°C sont stables pendant 1 mois dans leur sachet d'origine refermé avec soin.
R2	La solution de lavage diluée peut être conservée à +2-30°C pendant 2 semaines. La solution de lavage concentrée (R2) peut être conservée à +2-30°C.
R7a + R7b	Après reconstitution, les réactifs peuvent être conservés à +2-8°C pendant 1 mois. Après reconstitution, les réactifs congelés peuvent être conservés jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le coffret (jusqu'à 11 cycles de congélation/décongélation).
R8 + R9	Après reconstitution, les réactifs conservés à l'obscurité sont utilisables pendant 6 heures à température ambiante (18-30°C).

5. AVERTISSEMENTS ET MESURE DE PRÉCAUTION

Pour utilisation en diagnostic *in vitro* par un professionnel de santé.

5.1. Précautions relatives à la santé et à la sécurité

- Ce coffret doit être manipulé uniquement par du personnel qualifié formé aux procédures de laboratoire et familier avec leurs risques potentiels. Porter des vêtements protecteurs appropriés, gants et protection des yeux/visage et manipuler de manière appropriée selon les bonnes pratiques de laboratoire requises.

- La trousse contient des composants du sang humain. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation du contrôle négatif (R3), a été testé et trouvé négatif en antigène HBs et VIH et en anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-VHC. Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation du contrôle positif anticorps VIH-1 (R4) a été testé et trouvé négatif en antigène HBs et en anticorps anti-VHC. Aucune méthode d'analyse connue ne peut offrir une complète

assurance que des agents infectieux sont absents. Par conséquent, tous les dérivés du sang humain, réactifs et échantillons humains, doivent être manipulés comme s'ils étaient capables de transmettre une maladie infectieuse, en suivant les précautions universelles recommandées pour les pathogènes sanguins comme définies par les réglementations nationales, régionales et locales.

- Projections Biologiques : les projections de matériel humain doivent être traitées comme potentiellement infectieuses. Les projections ne contenant pas d'acide doivent être immédiatement décontaminées (incluant la zone de projection, le matériel et toute surface contaminée ou équipement) avec un désinfectant chimique approprié qui doit être efficace pour les risques potentiels relatifs aux échantillons impliqués (communément une dilution à 1:10 d'eau de Javel, 70-80% Ethanol ou Isopropanol, un iodophor tel que 0,5% Wescodyne™ Plus, etc.), et séchées. Les projections contenant de l'acide doivent être absorbées (essuyées) de manière appropriée ou neutralisées, la zone lavée avec de l'eau et séchée; le matériel utilisé pour absorber la projection peut nécessiter d'être jeté dans une poubelle pour risque biologique. Ensuite la zone doit être décontaminée avec un des désinfectants chimiques.

- *NOTE : Ne pas mettre des solutions contenant de l'eau de Javel dans l'autoclave !*

- Jeter tous les échantillons et le matériel utilisés pour réaliser le test comme s'ils contenaient un agent infectieux. Les déchets de laboratoire, chimiques ou biologiques doivent être manipulés et jetés selon les réglementations locales, régionales et nationales.

- Pour les risques et recommandations de précaution relatifs à certains composants chimiques dans cette trousse, merci de vous référer au(x) pictogramme(s) indiqué(s) sur les étiquettes et à l'information fournie à la fin de la notice. La fiche de données de sécurité du produit est disponible sur www.bio-rad.com.

5.2. Précautions relatives au protocole

5.2.1. Préparation

La qualité des résultats dépend du respect des bonnes pratiques de laboratoire suivantes :

- Ne pas utiliser des réactifs dont la validité est expirée.
- Ne pas mélanger ou associer des réactifs de lots différents au cours d'une même série.
- Avant utilisation, sortir les réactifs de la boite et attendre 30 minutes que les réactifs s'équilibrent à la température ambiante (18-30°C).
- Le nom du test ainsi qu'un numéro d'identification spécifique du test sont mentionnés sur le cadre de chaque microplaque. Ce numéro d'identification spécifique figure également sur chaque barrette.

Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab : numéro spécifique d'identification = 53

Cette identification doit être vérifiée avant chaque utilisation. Toute barrette dont le numéro de test est absent, ou différent de celui correspondant au test réalisé, ne doit pas être utilisée.

REMARQUE : Il est possible d'utiliser d'autres lots de solution de lavage (R2, identifié 20X en vert sur l'étiquette), de tampon substrat (R8, identifié TMB buf. en bleu), de chromogène (R9, identifié TMB 11X en violet) et de solution d'arrêt (R10, identifié 1N en rouge), que ceux fournis dans la trousse sous réserve d'utiliser un seul et même lot de ceux-ci au cours d'une même série. Ces réactifs peuvent être utilisés avec d'autres produits de notre société. Contacter nos services techniques pour obtenir des informations détaillées.

- Reconstituer soigneusement les réactifs en évitant toute contamination.
- Utiliser une verrerie parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée ou de préférence du matériel à usage unique.
- Ne pas laisser la microplaque sécher entre la fin du lavage et la distribution des réactifs.
- La distribution des échantillons doit être immédiate après la distribution du conjugué 1. Le temps d'attente entre la distribution du conjugué 1 et des échantillons ne doit pas excéder 30 minutes.
- La réaction enzymatique est très sensible à tous métaux ou ions métalliques. En conséquence, aucun élément métallique ne doit entrer en contact avec les différentes solutions contenant le conjugué ou la solution substrat.

- La solution de révélation (tampon substrat + chromogène) doit être colorée en rose. L'apparition d'une autre coloration dans les minutes suivant la reconstitution indique que le réactif est inutilisable et doit être remplacé.
- Pour cette préparation, utiliser de préférence des récipients et du matériel de distribution en plastique à usage unique ou de la verrerie préalablement lavée à l'acide chlorhydrique 1N, rincée à l'eau distillée et séchée. Conserver cette solution à l'abri de la lumière.
- Ne jamais utiliser le même récipient pour distribuer le conjugué et la solution de révélation.

5.2.2. Réalisation

- Ne pas changer le mode opératoire.
- 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 un cône de distribution neuf pour chaque sérum.
- Le lavage des cupules est une étape essentielle de la manipulation : respecter le nombre de cycles de lavages prescrits, et s'assurer que toutes les cupules soient complètement remplies, puis complètement vidées. Un mauvais lavage peut entraîner des résultats incorrects.
- Pour des performances optimales, suivre attentivement les procédures de lavage décrites. Selon les instruments, il peut être nécessaire d'optimiser la procédure de lavage (augmentation du nombre d'étapes de cycles de lavage et/ou le volume de la solution de lavage pour chaque cycle) afin d'obtenir un niveau acceptable de bruit de fond pour les échantillons négatifs.
- Contacter Bio-Rad pour l'adaptation et les procédures spéciales.

6. ÉCHANTILLONS

Prélever un échantillon de sang selon les pratiques en usage.
Les tests sont effectués sur des échantillons non dilués de sérum ou de plasma (collectés avec des anticoagulants comme l'EDTA, Citrate de Sodium ou ACD). L'utilisation d'échantillon prélevé sur des tubes contenant de l'héparinate de lithium n'est pas recommandée. Séparer le sérum ou le plasma du caillot ou des globules rouges dès que possible pour éviter toute hémolyse. Une hémolyse très prononcée peut affecter les performances du test. Les échantillons présentant des agrégats doivent être clarifiés par centrifugation avant le test. Les particules ou agrégats de fibrine en suspension peuvent donner des résultats faussement positifs.
Les échantillons seront conservés à +2-8°C si le dépistage est effectué dans les 7 jours ou peuvent être conservés congelés à -20°C pour plusieurs mois. Le plasma doit être rapidement décongelé par réchauffement pendant quelques minutes dans un bain d'eau à 40 ° C (pour éviter la précipitation de fibrine). Eviter les congélations/ décongélations répétées (au-delà de 3 cycles de congélation / décongélation).
Les échantillons contenant jusqu'à 90 g/l d'albumine, 200 mg/l de bilirubine, 50 µg/l de biotine ainsi que sur des échantillons d'aspect lipémique contenant jusqu'à 36 g/l de triglycérides et sur des échantillons hémolysés contenant jusqu'à 10 g/l d'hémoglobine n'affectent pas les résultats. Il est cependant recommandé de ne pas utiliser des échantillons contaminés, hyper lipémiques et hyper hémolysés. Le chauffage des échantillons n'est pas recommandé.
Si les échantillons doivent voyager, les emballer selon la réglementation en usage pour le transport des agents étiologiques et les transporter préférablement congelés.

7. MODE OPÉRATOIRE

7.1. Equipement nécessaire mais non fourni

- Eau distillée ou complètement déminéralisée.
- Eau de javel et bicarbonate de soude.
- Papier absorbant.
- Films adhésifs.
- Gants à usage unique.
- Lunette de protection.
- Tubes à usage unique
- Pipettes automatiques ou semi-automatiques réglables ou fixes pouvant distribuer 25 µl, 75 µl, 80 µl et 100 µl.
- Eprouvettes graduées de 25 ml, 100 ml et 1 000 ml. Agitateur type vortex.

- Système de lavage, automatique, semi-automatique ou manuel pour microplaque (*).
- Bain-marie, ou incubateur sec, pouvant être thermostaté à 37°C ± 1°C(*).
- Conteneur de déchets contaminés.
- Appareil de lecture pour microplaques équipés de filtres 450, 490 et 620-700 nm (*).

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

7.2. Préparation des réactifs

7.2.1. Réactifs prêts à l'emploi

Réactif 1 (R1) : Microplaque
Chaque support cadre contenant 12 barrettes est conditionné en sachet aluminium scellé. Couper le sachet à l'aide de ciseaux ou scalpel 0,5 à 1 cm au-dessus de la soudure. Ouvrir le sachet et sortir le cadre. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.
Réactif 3 (R3) : Contrôle négatif
Réactif 4 (R4) : Contrôle positif anticorps VIH
Réactif 5 (R5) : Contrôle positif antigène VIH
Réactif 6 (R6) : Conjugué 1
Réactif 10 (R10) : Solution d'arrêt

7.2.2. Réactifs à reconstituer

Réactif 2 (R2) : Solution de lavage concentré (20X)
Diluer 20 fois la solution dans l'eau distillée. On obtient ainsi la solution de lavage prête à l'emploi.
Prévoir 800 ml pour une plaque de 12 barrettes.

Réactif 7a (R7a) +Réactif 7b (R7b) : Solution de travail du conjugué 2
Taper doucement le flacon du conjugué lyophilisé 2 (R7a) sur la paillasse pour enlever toute substance pouvant adhérer au bouchon en caoutchouc. Enlever le bouchon avec soin et verser le contenu du diluant conjugué (R7b) dans le flacon de conjugué lyophilisé. Reboucher et attendre 10 minutes en remuant et en retournant de temps en temps pour faciliter la dissolution.

Réactif 8 (R8) + Réactif 9 (R9) : Solution de révélation enzymatique
Diluer le réactif R9 dans le réactif R8 au 1/11^{e} (exemple : 1 ml de réactif R9 dans 10 ml de réactif R8) sachant que 10 ml sont nécessaires et suffisants pour traiter 12 barrettes. Homogénéiser.

7.3. Protocole opératoire

Suivre strictement la procédure.
Utiliser les contrôles positifs anticorps VIH-1 (R4), antigène VIH (R5) et le contrôle négatif (R3) pour chaque série de test afin de valider la qualité du test.
Suivre les Bonnes Pratiques de Laboratoire suivantes :

1) Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons.
2) Préparer la solution de lavage diluée R2 et la solution de travail conjugué 2 (R7a + R7b) (se référer au § 7.2).
3) Sortir le cadre support et le nombre de barrettes nécessaires (R1) de l'emballage protecteur. Replacer dans le sachet les barrettes inutilisées. Refermer le sachet soigneusement et le replacer à +2-8°C.
4) Déposer directement, sans prélavage de la plaque, successivement :
    - 25 µl de conjugué 1 (R6) dans chaque cupule
    - 75 µl de contrôle positif Ag VIH (R5) en A1
    - 75 µl de contrôle positif anticorps VIH (R4) en B1
    - 75 µl de contrôle négatif (R3) en C1, D1 et E1
    - 75 µl du premier échantillon en F1,
    - 75 µl du deuxième échantillon en G1, etc.

Homogénéiser le mélange par 3 aspirations minimum avec une pipette de 75 µl ou avec un agitateur de microplaque durant 5 secondes. La distribution des échantillons doit être immédiate après la distribution du conjugué 1. Si la distribution des échantillons excède 30 minutes, il est alors recommandé de distribuer les contrôles négatifs et positifs après les échantillons à tester.

En fonction du système utilisé, il est possible de modifier la position ou l'ordre de distribution des contrôles.

REMARQUE : Après la distribution des échantillons, la cupule contenant le conjugué 1 vire du jaune-vert au bleu. Il est possible de vérifier la présence de (échantillon + conjugué 1) dans les cupules par lecture spectrophotométrique à 620 nm (se référer au §7.7).

5) Couvrir si possible la microplaque d'un film adhésif.
6) Incuber la microplaque pendant 1 heure (± 4 min) à 37°C ± 1°C.
7) Si nécessaire, retirer le film adhésif. Aspirer le contenu de toutes les cupules dans un conteneur pour déchets contaminés (contenant de l'hypochlorite de sodium). Ajouter dans chacune d'elles un minimum de 370 µl de solution de lavage. Respecter un temps de trempage minimum de 30 secondes. Aspirer de nouveau. Répéter le lavage au moins 2 fois (soit un minimum de 3 lavages au total). Le volume résiduel doit être inférieur à 10 µl (si nécessaire, sécher la plaque par retournement sur une feuille de papier absorbant).
   Si l'on dispose d'un laveur automatique, respecter le même cycle opératoire.
8) Distribuer rapidement 100 µl de la solution de conjugué 2 (R7a + R7b) dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi. Recouvrir, si possible, d'un film neuf et incuber pendant 30 minutes (± 4 min.) à température ambiante (18-30°C).

REMARQUE : Le conjugué 2 est coloré en rouge. Il est possible de vérifier la présence du conjugué 2 dans les cupules par lecture spectrophotométrique à 620 nm (se référer au § 7.7).

9) Si nécessaire, retirer le film adhésif, vider toutes les cupules par aspiration et laver au moins 5 fois comme précédemment.
10) Préparer la solution de révélation (réactif R8 + R9).
11) Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique (R8 + R9) préalablement préparée. Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 minutes (± 4 min.) à température ambiante (18 à 30°C). Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

REMARQUE : La distribution de la solution de révélation qui est colorée en rose, peut être contrôlée visuellement. Il y a une nette différence de coloration entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rose. (Se référer § 7.7).

12) Ajouter 100 µl de la solution d'arrêt (R10) en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.

REMARQUE : La distribution de la solution d'arrêt, qui est incolore, peut être contrôlée visuellement à ce stade de la manipulation. La coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

13) Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Attendre au moins 4 minutes après la distribution de la solution d'arrêt, et, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, lire la densité optique à 450/620-700 nm à l'aide d'un lecteur de plaques.
14) S'assurer avant la transcription des résultats de la concordance entre la lecture et le plan de distribution et d'identification des plaques et des échantillons.

7.4. Contrôle qualité

Utiliser les contrôles positifs et négatifs dans chaque série de test pour valider l'essai. (Se référer au §7.5).

7.5. Critère de validation du test

Le test est validé si les conditions ci-dessous sont respectées :

1) Pour le contrôle négatif (R3)

L'absorbance de chaque contrôle négatif (R3) doit être inférieure à 0,170 :
DO (R3) < 0,170

La moyenne des absorbances des contrôles négatifs doit être inférieure à 0,150 :
$\overline{DO\ (R3)} < 0,150$
Si l'un des contrôles négatifs (R3) ne respecte pas cette condition, éliminer cette valeur et refaire le calcul de la moyenne du contrôle négatif avec les deux valeurs restantes.

2) Pour le contrôle positif anticorps VIH (R4)
L'absorbance du contrôle positif anticorps VIH (R4) doit être supérieure à 0,9 :
DO (R4) > 0,9

3) **Pour le contrôle positif antigène VIH (R5)**
L'absorbance du contrôle positif antigène VIH (R5) doit être supérieure à 0,9 :
DO (R5) > 0,9

7.6. Calcul / Interprétation des résultats

La valeur seuil est déterminée à l'aide du contrôle négatif R3 :
Calculer la moyenne des absorbances mesurées pour le contrôle négatif R3.

$$DO\ R3 = \frac{DO\ (C1) + DO\ (D1) + DO\ (E1)}{3}$$

Calcul de la valeur seuil (VS) :
VS = DO R3 + 0,200

La présence ou l'absence d'antigène VIH ou d'anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 détectable est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

Pour chaque échantillon, le ratio suivant est calculé :
Ratio = DO de l'échantillon / Valeur Seuil

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés négatifs (ratio < 1) d'après le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab.
Toutefois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil (VS- 10% < DO < VS) doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau les échantillons correspondants en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale au seuil (ratio ≥ 1) sont considérés comme initialement positifs par le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. Ces échantillons doivent être re-testés en double avant l'interprétation finale.

Si après répétition de l'essai, la valeur du ratio d'un des deux doublets est supérieure ou égale à 1, le résultat initial est reproductible et l'échantillon est déclaré comme positif avec le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. Si la valeur du ratio d'un des deux doublets est inférieure ou égale à 1, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif.

L'origine des réactions 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, etc…)
- Contamination de la solution d'arrêt

Les échantillons qui ont été testés 2 fois et trouvés négatifs avec le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab, mais dont l'une des deux valeurs de ratio est proche de la valeur seuil (ratio compris entre 0.9 et 1), doivent être interprétés avec prudence. Il est conseillé de re-tester le patient avec un autre prélèvement ou avec une autre technique.

Dans le cas où des échantillons testés ont des densités optiques très faibles (DO négative) et que leur présence a été contrôlée ainsi que celle des réactifs, alors les résultats peuvent être interprétés comme négatif.
Il est conseillé de confirmer les échantillons positifs conformément aux recommandations et algorithmes nationaux en vigueur.

7.7. Vérification spectrophotométrique du dépôt des échantillons et du conjugué (optionnel)

Vérification du dépôt du conjugué 1 (R6) et des échantillons
Apres distribution du conjugué 1 (R6) et des échantillons (ou du contrôle), il est possible de vérifier la présence simultanée du conjugué 1 et des échantillons (ou du contrôle) par une lecture spectrophotométrique à 620 nm : la densité optique d'une cupule contenant à la fois du conjugué 1 et de l'échantillon doit être supérieure à 0,600 (une DO plus faible indique une mauvaise distribution du conjugué ou de l'échantillon).

Vérification du dépôt de la solution de travail du conjugué 2
Apres distribution de la solution de travail du conjugue 2 (R7a + R7b), il est possible de vérifier sa présence par une lecture spectrophotométrique à 450 / 620 nm : la densité optique d'une cupule contenant du conjugué 2 reconstitué doit être supérieure à 0,100 (une DO plus faible indique une mauvaise distribution du conjugué 2 reconstitué).

Vérification du dépôt de la solution de révélation
Il est possible de vérifier la présence de la solution de révélation rosée par lecture automatique à 490nm. Une cupule contenant la solution de révélation doit avoir une densité optique supérieure à 0,100 (une DO plus faible indique une mauvaise distribution de la solution de révélation).
Il y a une différence de coloration significative entre une cupule vide et une cupule contenant la solution de révélation rosée.

8. LIMITES DU TEST

De faibles taux d'antigène ou d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'antigène VIH ou d'anticorps anti-VIH détectable par le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab.

Un tel résultat n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH-1/VIH-2. La variabilité des virus VIH-1 (groupe M, groupe O) et VIH-2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance que le virus VIH est absent.

Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives. Afin de vérifier la spécificité de la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible (selon les critères d'interprétation de la trousse Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab) doit être confirmé par une méthode appropriée (par utilisation d'un test spécifique de dépistage des antigènes VIH, comme le test Genscreen HIV Ag EIA puis neutralisation pour prouver la présence d'antigène VIH ou par Western-Blot pour prouver la présence d'anticorps anti-VIH). Le chauffage des échantillons affecte la qualité des résultats.

La méthode colorimétrique de vérification du dépôt des échantillons et/ou des conjugués et/ou de la solution de révélation ne permet pas de vérifier l'exactitude des volumes distribués mais seulement de montrer la présence d'échantillons et/ou des conjugués et/ou de la solution de révélation.
Le taux de réponses erronées obtenues avec cette méthode est lié à la précision du système utilisé (des CV cumulés de pipetage et de lecture supérieurs à 10% peuvent dégrader significativement la qualité de cette vérification).
Des échantillons ictériques, hyperlipémiques ou hyperhémolysés peuvent affecter la méthode colorimétrique de vérification du dépôt du conjugué 1.

Dans ce cas seule la présence des échantillons est certaine. Dans le cas d'un lavage inefficace après l'étape d'incubation du conjugué, la vérification automatique de la distribution de la solution de révélation (par lecture à 490 nm des densités optiques des cupules) peut donner des résultats erronés

avec des densités optiques supérieures à 0,100 en l'absence de solution de révélation. Cependant, ce phénomène n'a pas été observé durant les évaluations conduites sur 939 échantillons testés.

9. CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

9.1. Mesure de fidélité

La répétabilité et la fidélité intermédiaire du test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab ont été déterminées par l'analyse de 10 échantillons : 1 négatif, 3 positifs VIH-1, 3 positifs VIH-2 et 3 positifs en antigène VIH.
La répétabilité a été évaluée en testant ces 10 échantillons 30 fois dans une même série tandis que la fidélité intermédiaire a été analysée en testant en double ces 10 échantillons durant 20 jours à raison de deux séries par jour.
Les moyennes, les écart-types et les coefficients de variation (CV) ont été déterminés sur les ratios.

9.1.1. Répétabilité

Echantillons		N	Ratio moyen	Ecart type	CV%
Négatif		30	0.28	0.02	5.37
Ab VIH-1	Faiblement positif	30	1.62	0.07	4.32
	Moyennement positif	30	2.98	0.13	4.33
	Fortement positif	30	5.37	0.18	3.32
Ab VIH-2	Faiblement positif	30	2.5	0.18	7.20
	Moyennement positif	30	5.35	0.45	8.48
	Fortement positif	30	11.19	0.58	5.21
Ag VIH	Faiblement positif	30	1.58	0.06	3.64
	Moyennement positif	30	4.19	0.17	4.13
	Fortement positif	30	9.21	0.34	3.65

9.1.2. Fidélité intermédiaire

			Analyse en cours			Entre les séries		Entre les jours/opérateurs		Précision Totale	
Echantillons		N	Ratio moyen	Ecart type	CV %	Ecart type	CV %	Ecart type	CV %	Ecart type	CV %
Négatif		72	0.26	0.016	6.2	0.014	5.5	0.014	5.5	0.025	9.9
Ab VIH-1	Faiblement positif	72	1.04	0.029	2.8	0.044	4.3	0.056	5.4	0.078	7.5
	Moyennement positif	72	2.67	0.076	2.8	0.097	3.6	0.170	6.4	0.210	7.9
	Fortement positif	72	4.91	0.114	2.3	0.166	3.4	0.328	6.7	0.385	7.8
Ab VIH-2	Faiblement positif	72	1.73	0.114	6.6	0.121	7.0	0.263	15.2	0.311	17.9
	Moyennement positif	72	4.40	0.477	10.8	0.000	N/A	0.484	11.0	0.680	15.4
	Fortement positif	72	10.94	0.427	3.9	0.319	2.9	0.366	3.4	0.647	5.9
Ag VIH	Faiblement positif	72	1.29	0.052	4.0	0.038	3.0	0.053	4.1	0.084	6.5
	Moyennement positif	72	3.47	0.085	2.5	0.134	3.9	0.068	2.0	0.173	5.0
	Fortement positif	72	8.89	1.272	14.3	0.000	N/A	0.000	N/A	1.272	14.3

9.2. Performances cliniques

Les performances du Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab ont été déterminées en testant des échantillons de donneur de sang non sélectionnés ainsi que des échantillons de patients infectés par le virus VIH ou des panels commerciaux de séroconversions. La limite de sensibilité pour la détection des Ag VIH a été établie par analyse de l'étalon Ag VIH de l'ANSM.
Des échantillons de patients atteints d'affections sans relation avec le VIH ont également été testés.

9.2.1. Spécificité diagnostique

La spécificité a été déterminée sur un total de 6 038 échantillons de donneurs de sang non sélectionnés dans 3 sites différents. La spécificité sur donneurs de sang non sélectionnées était de 99,95% (6 035 échantillons négatifs / 6 038 échantillons testés) avec 3 échantillons trouvés réactifs répétés et non confirmés en Western blot VIH tout comme en Ag VIH.

409 échantillons non sélectionnés dans 2 laboratoires hospitaliers d'analyses, 14 échantillons ont été trouvés initialement réactifs dont 12 étaient répétés réactifs : 11 d'entre eux ont été confirmés par Western-Blot, 1 ne l'a pas été et a été considéré comme faussement positif. La spécificité sur cette population était de 99,75% (397 échantillons négatifs / 398 échantillons testés), IC 95% [98,61 – 99,99%].

9.2.2. Sensibilité diagnostique

La sensibilité a été évaluée en testant des échantillons dont la présence d'anticorps anti-VIH a été confirmée, des échantillons provenant de patients atteints d'infections aiguës ou provenant de panels commerciaux de séroconversions. Des échantillons contenant des antigènes VIH ont également été testés (purs ou dilués).

1) Echantillons dont la présence d'anticorps a été confirmée

763 échantillons positifs provenant du suivi de patients infectés par les VIH-1 ou VIH-2 ont été analysés. La sensibilité obtenue dans cette étude était de 100%.

	Types	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons réactifs	Sensibilité
VIH-1	A, B, C (classification CDC)	200	200	100%
	WB VIH-1 complet ou profil avec des bandes anti-gag faibles	200	200	100%
	Groupe M (18A, 71B, 23C, 9D, 12E, 4F)	137	137	100%
	Groupe O	22	22	100%
	Groupe N	1	1	100%
	Panel BBI PRZ 204	7	7	100%
VIH-2	Profil WB ViH-2 complet	196	196	100%

25 échantillons VIH positifs frais additionnels (≤ 1 jour après le prélèvement) ont été testés et tous ont été trouvés positifs.

2) Echantillons de patients atteints d'infection aiguë ou provenant de panels commerciaux de séroconversion

- 81 échantillons provenant de patients atteints d'infections VIH aiguë ou récemment infectés ont tous été trouvés positifs avec le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab (35 échantillons provenant de 28 patients avec des profils de séroconversions en Western-Blot et 46 échantillons de patients récemment infectés)

- 20 échantillons de per-séroconversion ont été testés (échantillons de séroconversion précoce avec des profils Western-Blot négatifs ou des bandes p24 et / ou gp160 très faibles en Western-Blot) : 19 d'entre eux ont été trouvés positifs.
- Un total de 90 panels commerciaux de séroconversions bien documentées ont aussi été analysés. les résultats sur 85 de ces panels ont pu être comparés à un test marqué CE : le Genscreen™ PLUS HIV Ag-Ab.

Résultats obtenus avec Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab comparativement au Genscreen™ PLUS HIV Ag-Ab	Détections plus précoces (au moins un échantillon supplémentaire détecté)	Détections équivalentes (les mêmes échantillons sont reconnus positifs)	Détection plus tardive
Nombre de séroconversions	44	41	0

Au moins 170 échantillons de séroconversion précoce ont été testés avec le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab.

9.3. Sensibilité analytique

Standards VIH Ag :
La sensibilité analytique a été estimée par le standard Ag VIH p24 de l'OMS (90/636) et trouvée à 0,85 IU/ml avec un IC 95% [0,73 – 1,01 IU/ml].
La limite de sensibilité du test calculée par extrapolation de la courbe obtenue en testant les dilutions de l'étalon Ag VIH p24 de l'ANSM (avec une concentration initiale de 100 pg/ml) a été trouvée inférieure à 25 pg/ml. Durant les évaluations externes, la limite de détection calculée par régression de la courbe standard du panel "Ag VIH SFTS 1998" (panel Ag VIH de la Société Française de Transfusion Sanguine) a été établie à 13,6 pg/ml.

Sensibilité sur des échantillons Ag VIH positifs :
56 échantillons ont été testés: 53 contenant au moins 25 pg/ml d'antigène VIH étaient positifs alors que 3 échantillons contenant respectivement 13, 16 et 19 pg/ml d'Antigène VIH avaient des ratios (densité optique / valeur seuil) compris entre 0,9 et 1,00.

Sensibilité sur des échantillons provenant de surnageant de cultures cellulaires :
83 surnageant de génotypes suivants ont été testés : 76 VIH-1 du groupe M (16 A, 16 B, 11 C, 7D, 13 E, 4 F, 4 G, 3 H, 2 J), 4 VIH-1 du groupe O, 1 VIH-1 du groupe N et 2 VIH-2. Tous les échantillons VIH-1 étaient réactifs à l'exception d'un échantillon de groupe O qui ne contenait que 29 pg/ml d'antigène VIH et qui avait été trouvé avec un ratio (densité optique / valeur seuil) de 0,6.

9.4. Spécificité analytique / réactions croisées

404 patients montrant différentes pathologies ou statuts non liés au VIH (femmes enceintes, facteur rhumatoïde, maladies auto-immune (SLE), cirrhose, insuffisance rénale chronique, dialyse, immunoglobulines anti-souris ou d'autres infections virales ou bactériennes (Hépatites A, B et C, Rubéole, Toxoplasmose, Oreillons, Rougeole, CMV, HSV, EBV, VZV, HTLVI, Malaria, patients vaccinés contre la grippe) testés avec le test Genscreen™ ULTRA HIV Ag-Ab. La spécificité était de 99,0% CI 95% [97,5-99,7%] sur cette population (400 échantillons négatifs / 404 échantillons testés) avec 4 réactions non spécifiques mais non significatives (1 Measle IgG, 1 HSV IgG, 1 Rubella, 1 SLE).

9.5. Effet crochet

Echantillons positifs en Antigène VIH : 19 dilutions ont été réalisés à partir de l'antigène VIH p 24 dans la matrice du sérum négatif non dilué 1 000 ng/ml à 3,125 pg/ml.
Pas de résultats négatifs ou d'échantillon non dilués observés lorsque l'on compare les échantillons dilués. A revoir

Echantillons positifs en Anticorps VIH : 5 des échantillons anticorps VIH ont été testés à partir d'une dilution au 1/512e.
Pas de résultats négatifs ou d'échantillons non dilués observés lorsque l'on compare les échantillons dilués.

10. RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. BARRE-SINOUSSI F., CHERMANN J.C., REY F. et al.
Isolation of a T.lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS),
Science 1983, 220, 868-871.

2. BRUN-VEZINET F., ROUZIOUX C., BARRE-SINOUSSI F. et al.
Detection of IgG antibodies to lymphadenopathy-associated in patients with Aids or lymphadenopathy syndrome.
Lancet 1984, june, 1253-1256

3. CLAVEL F., GUYADER M., GUETARD D. et al.
Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2.
Nature 1986, 324, 691-695.

4. NORRBY E., BIBERFELD G., JOHNSON PR. et al.
The chemistry of site-directed serology for HIV infections.
AIDS Res Human Retroviruses 1989, 5, 487-493

5.MATHIESEN T., CHIODI F., BROLIDEN P.A., et al.
Analysis of a subclass restricted HIV-1 gp 41 epitope by omission peptides.
Immunology 1989, 67,1-7

6.PASQUALI J.L., KIENY M.P., KOLBE H. et al.
Immunogenicity and epitope mapping of a recombinant soluble gp 160 of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein AIDS Res.
Human Retroviruses 1990, 6,1107-1113.

7. ZAAIJER H.L., EXEL-OEHLERS P.V., KRAAIJEVELD T. et al.
Early detection of antibodies to HIV-1 by third-generation assays.
The Lancet 1992, 340, 770-772.

8. COUROUCE AM. and the other members of the retrovirus study group of the french society of blood transfusion. Effectiveness of assays for antibodies to HIV and p24 antigen to detect very recent HIV infections in blood donors.
AIDS 1992, 6, 1548-1550

9. LANGE J.M.A., TEEUWSEN V.J.P., VAHLNE A., BARIN F. et al.
Antigenic variation of the dominant gp41 epitope in Africa.
AIDS 1993, 7, 461-466.

10. CONSTANTINE N.T.
Serologic tests for retroviruses : approaching a decade of evolution.
AIDS 1993, 7, 1-13.

11. VANDEN HAESEVELDE M., DECOURT JL., DE LEYS R. et al.
Genomic cloning and complete sequence analysis of a highly divergent african human immunodeficiency virus isolate.
J. Virology 1994, 68, 1586-1596.

12. GURTLER L.G., HAUSER P.H., EBERLE J. et al.
A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon.
J. Virology 1994, 1581-1585

13. NAIR B.C., FORD G., KALYANARAMAN V.S. et al.

Enzyme immunoassay using native envelope glycoprotein (gp 160) for detection of human immunodeficiency virus type 1 antibodies.
J. Clin. Microbio 1994, 32, 1449-1456.

14. GAO F., YUE L., ROBERTSON D.L. et al.
Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2 : evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology.
J. Virol. 1994, 68, 7433-7447.

15. BUSCH M.P., SATTEN G.A.
Time course of viremia and antibody seroconversion following human immunodeficiency virus exposure.
American J. Med. 1997, 102, 117-124.

16. AUBUCHON J.P., BIRKMEYER J.D., BUSCH M.P.
Cost-effectiveness of expanded human immunodeficiency virus-testing protocols for donated blood.
Transfusion 1997, 37, 45-51.

17. WEBER B. et al.
Reduction of diagnostic window by new fourth-generation human immunodeficiency virus screening assays.
J. Clin. Microbio. 1998, 36, 2235-2239.

18. GURTLER L., MUHLBACHER A., MICHL U. et al.
Reduction of the diagnostic window with a new combined p24 antigen and human immunodeficiency virus antibody screening assay.
J. Virology Methods 1998, 75, 27-38.

19. SIMON F., MAUCLERE P., ROQUES P. et al.
Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O.
Nature med. 1998, 4, 1032-1037.

20. COUROUCE AM. et le groupe de travail Rétrovirus de la Société Française de Transfusion Sanguine. Tests de dépistage combiné des anticorps anti-VIH et de l'antigène p24.
Spectra Bio. 1999, 18, 38-44.

21. GISLEFOSS RE, GRIMSRUD TK, MOKRID L.
Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank.

(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. Käsitseda 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 eläimistä 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 produkte yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtinių dalių. Elgtis atsargiai.
(MT) • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-annimali. 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. Manevrați-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 замърсено 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. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení. PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou/osprchujte. 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): Tilsmudset tøj tages straks af/fjernes. Skyl/brus huden med vand. Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. Bortskaffelse af indholdet/beholderen i henhold til de lokale/regionale/nationale/internationale forskrifter.

(EE)
Ettevaatust
Põhjustab rasket nahasöövitust 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: pöörduda 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 aíslen 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/silmiensuojainta/ 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. El 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/récipient 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 ξεπλένετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΚΑΤΑΠΟΣΗΣ: Ξεπλύνετε το στόμα. ΜΗΝ προκαλέσετε εμετό. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ 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/Επισκεφθείτεγιατρό. Απορρίψτε τα περιεχόμενα/δοχείο σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

(HR)
Ppasnost
Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži.
Nositi zaštitne rukavice/zaštitnu odijelo/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 zaganenu odjeću. Isprati kožu vodom/tuširanjem. U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Odložite sadržaje /spremnike u skladu s lokalnim/regionalnim/nacionalni/ međunarodnim odredbama.

(HU)
Veszély
Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Allergiás bőrreakciót válthat ki.
Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. 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 BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás. Bőrirritáció 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. Smaltire 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/talpą išpilti (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/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYNENE: 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: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: wypłukać usta. NIE wywoływać wymiotów. W PRZYPADKU KONTATKU 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 vómito. 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 şi lezarea ochilor. Poate provoca o reacţie alergică a pielii.
Purtaţi mănuşi de protecţie/îmbrăcăminte de protecţie/echipament de protecţie a ochilor/ chipament de protecţie a feţei. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiţi cu atenţie cu apă timp de mai multe minute. Scoateţi lentilele de contact, dacă este cazul şi dacă acest lucru se poate face cu uşurinţă. Continuaţi să clătiţi. ÎN CAZ DE ÎNGHIŢIRE: clătiţi gura. NU provocaţi voma. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA (sau părul): scoateţi imediat toată îmbrăcămintea contaminată. Clătiţi pielea cu apă/faceţi duş. În caz de iritare a pielii sau de erupţie cutanată: consultaţi medicul. Aruncaţi conţinutul/containerul în acord cu regulamentele locale/ regionale/naţionale/internaţionale.

(SE)
Fara
Orsakar allvarliga 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 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 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)
Nebezpečenstvo
Provoacă arsuri grave ale pielii şi lezarea ochilor. Môže vyvolať alergickú kožnú reakciu.
Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. PO POŽITÍ: vypláchnite ústa. Nevyvolávajte zvracanie. 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

CE 0459

2013/10
883637 – V2