

HEV ELISA 4.0

Instructions d'utilisation



Date de révision : 2016-02
MBE0011-FRA-3

Remarque: modifications en surbrillance.

REF 23540-096: (96 tests)

NOM ET USAGE

VHE ELISA 4.0 de MP Diagnostics est une méthode de dosage immunoenzymatique sur support solide de détection des anticorps du Virus de l'Hépatite E (anti-VHE) dans le sérum ou le plasma humain. Cette méthode est utilisée comme test de dépistage, nécessitant de tester de façon répétée des spécimens initialement réactifs.

INTRODUCTION

Le Virus de l'Hépatite E (VHE) est un virus monocaténaire sans enveloppe à ARN enroulé dans le sens positif, qui a été identifié pour la première fois en tant qu'hépatite à virus ni A, ni B par Genelabs en 1990 (1,2). Le développement de l'infection du VHE est en général court et se guérit sans séquelles chroniques. Le taux de mortalité chez les femmes enceintes au troisième trimestre est pourtant élevé : environ 10-20 % (3), et le taux de mortalité dans la population générale est de 1-2 %, ce qui est 10 fois supérieur à celui de l'hépatite A (VHA). Avec le clonage de l'agent causal du virus de l'hépatite à virus ni A, ni B à Genelabs et l'identification des épitopes communs de type viral (1,2), des outils de diagnostic spécifique ont été développés pour détecter les anticorps dirigés contre le VHE.

On a découvert que les épidémies majeures de l'hépatite à virus ni A, ni B (ET-NANBH) ont eu lieu dans des pays en voie de développement tels que l'Asie, l'ex URSS, l'Amérique centrale et l'Afrique (3,4). Des cas sporadiques ont été rapportés dans des pays développés comme l'Australie, le Royaume-Uni et les États-Unis (5,6,7). Les cas rapportés dans les pays développés ont en général été associés à des voyages dans des régions endémiques. Cependant, il y a de plus en plus de preuves suggérant que des cas sporadiques d'infections du VHE sans association avec des régions endémiques sont apparus dans un bon nombre de régions non endémiques, incluant l'Europe de l'ouest, la Grèce, les États-Unis, l'Australie, et Taïwan (8-17).

Des expériences ont prouvé que le VHE humain est capable d'infecter des espèces animales (18-21), alors que les primates non humains peuvent être infectés par le VHE porcine (21). De récentes études sur la prévalence de l'infection du VHE chez les animaux démontrent la séroprévalence élevée des anticorps dirigés contre le HEV chez diverses espèces animales, incluant l'espèce porcine, les équidés, etc. Les preuves sont de plus en plus nombreuses à indiquer que la propagation importante

de l'infection du VHE chez les animaux, et en particulier les porcs, pourrait représenter un réservoir important pour la transmission du virus. Certains cas sporadiques d'infection du VHE dans des zones non endémiques peuvent être attribués à la transmission zoonotique.

Une méthode VHE ELISA très sensible et spécifique est nécessaire pour la détection des anticorps VHE totaux dans le sérum ou le plasma humain.

Le test **VHE ELISA 4.0 de MP Diagnostics** utilise un antigène recombinant exclusif, qui est bien conservé entre différentes souches du VHE (22,23,24), pour détecter la présence d'anticorps spécifiques comprenant les IgG, IgM et IgA contre le VHE.

DESCRIPTION DES SYMBOLES UTILISÉS

Les symboles graphiques suivants sont utilisés par MP Diagnostics pour les produits et l'emballage. Ces symboles sont ceux qui apparaissent le plus fréquemment sur les dispositifs médicaux et leur emballage. Certains des symboles courants sont expliqués plus en détail dans la norme européenne et internationale EN ISO 15223: 2012.

	Utiliser jusque		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Code du lot		Référence du catalogue
	Limites de température		Attention
	Fabricant		Mandataire dans la Communauté européenne
	Contenu suffisant pour $\leq n$ tests		Consulter les instructions d'utilisation
	Ne pas réutiliser		Table des matières

PRINCIPES CHIMIQUES ET BIOLOGIQUES DE LA PROCÉDURE

Les puits des microplaques en polystyrène sont recouverts d'un antigène recombinant exclusif présentant un épitope conformationnel qui est bien conservé entre différentes souches du VHE. Le conjugué HRP est produit avec le même antigène recombinant marqué à la peroxydase de raifort. Ce conjugué est tout d'abord dilué de manière adéquate dans un tampon diluant avant d'être appliqué dans les puits recouverts d'antigène des microplaques. Les échantillons de sérum ou de plasma sont ensuite ajoutés sur les puits recouverts d'antigène contenant le tampon diluant et le conjugué. Après incubation, les anticorps spécifiques VHE (IgG, IgM et IgA), s'ils sont présents, se lient aux deux antigènes immobilisés sur les puits et à l'antigène du conjugué dans le diluant. Les puits sont ensuite lavés abondamment afin de retirer les matériaux qui ne se sont pas liés. Une solution substrat contenant du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) est ensuite ajoutée dans chaque puits. La présence d'anticorps spécifiques est indiquée par une coloration bleue de la solution après incubation. La réaction se termine par l'ajout d'acide sulfurique. L'intensité de la couleur du produit de réaction jaune résultant est mesurée à 450 nm à l'aide d'un lecteur pour microplaques et son absorbance ou sa densité optique correspondante est proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans le spécimen.

- En cas d'accident ou de contact avec les yeux, rincer immédiatement à l'eau courante et consulter le médecin.
- Consulter immédiatement un médecin si des matériaux contaminés sont ingérés ou entrent en contact avec des plaies ouvertes ou autres lésions de l'épiderme.
- L'acide sulfurique peut provoquer des brûlures. **ÉVITEZ LES CONTACTS**. Si un produit rentre en contact avec la peau, lavez abondamment à l'eau.
- Évitez le contact de l'acide sulfurique avec tout métal ou agent d'oxydation.
- Ne pas exposer le substrat à une forte luminosité.
- Essayez immédiatement les éventuels matériaux infectieux renversés à l'aide de papier absorbant et tamponnez la zone contaminée avec un agent désinfectant efficace avant de reprendre le travail.

PRÉCAUTIONS ANALYTIQUES

- N'utilisez que des échantillons de sérum sanguin ou de plasma collectés dans de l'EDTA, de l'héparine, du citrate de sodium, de l'oxalate de K ou de l'acide-citrate-dextrose (ACD). Avant le stockage, assurez-vous que les caillots sanguins ou les cellules sanguines ont été séparés par centrifugation.
- N'utilisez pas de sang total ou d'autres fluides corporels.
- Pour que le test soit effectué dans des conditions optimales, vous devez **STRICTEMENT VOUS CONFORMER** à la procédure de test décrite dans ces Instructions d'utilisation. Des écarts par rapport à cette procédure peuvent conduire à des résultats aberrants.
- NE MODIFIEZ PAS LES RÉACTIFS ET NE LES REMPLACEZ PAS PAR CEUX D'UN AUTRE KIT**. Les contrôles, le conjugué et les microplaques sont assortis pour garantir des performances optimales. N'utilisez que les réactifs fournis dans le kit.
- N'utilisez pas les composants du kit après la date d'expiration imprimée sur l'emballage.
- Évitez la contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons ou des bouteilles d'origine et du prélèvement des aliquotes. La contamination pourra réduire prématurément la durée de vie des kits et engendrer des résultats erronés. Utilisez des techniques aseptiques, y compris des pipettes ou des embouts de pipettes jetables lorsque vous prélevez les aliquotes dans les flacons.
- Afin d'éviter la contamination croisée, utilisez un nouvel embout de pipette pour chaque spécimen aliquoté, et ne touchez pas le dessus ou le dessous des bandes, le rebord des puits ou le liquide dans les puits avec les doigts ou les embouts de pipette.
- Il est recommandé de laver la verrerie à utiliser avec les réactifs avec de l'acide chlorhydrique à 2M et de la rincer abondamment avec de l'eau distillée ou déionisée avant utilisation.
- Pour de meilleurs résultats, équilibrez tous les réactifs et les spécimens de test à température ambiante (25°C ± 5°C) avant utilisation. Immédiatement après utilisation, stockez à une température comprise entre 2°C et 8°C.
- N'utilisez que des réactifs de qualité, de l'eau déionisée ou distillée pour diluer les réactifs.
- TOUS LES RÉACTIFS DOIVENT ÊTRE BIEN MÉLANGÉS AVANT EMPLOI.**

ÉLÉMENTS DU KIT		
	Description des composants	Quantité Fournie
MICROPLATE	MICROPLAQUE VHE Douze bandes de 8 puits par plaque, emballés dans des sachets individuels en aluminium avec dessiccant. Chaque puits de microplaque contient une protéine du VHE recombinée absorbée. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 plaque (96 tests)
CONTROL —	CONTRÔLE NON-RÉACTIF Sérum humain normal inactivé, non-réactif pour l'anti-VHC, l'anti-VHE, l'antigène HBs et l'anti-VIH-1. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 flacon (400μl)
CONTROL +	CONTROL RÉACTIF Sérum humain inactivé contenant un titre élevé en anticorps IgG spécifiques du VHE. Contient des agents de conservation: thimérosal et azide de sodium. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 flacon (400μl)
DILUENT	DILUANT SAM (SAM = Sample Addition Monitor ou indicateur de présence de l'échantillon) Solution saline à base de Tris contenant du sérum de chèvre normal traité par la chaleur, de l'albumine sérique bovine et des stabilisants. Contient du BRONIDOX [®] L comme agent conservateur. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 bouteille (100ml)
WASH PLATE 20x	SOLUTION CONCENTRÉE DE LAVAGE DE PLAQUE (20x) Solution phosphate saline tamponnée avec du Tween 20. Contient du chloroacétamide comme agent conservateur. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 bouteille (120ml)
CONJUGATE	CONJUGUÉ Antigène VHE marqué au peroxydase de raifort. Contient un agent conservateur: 0,02 % de thimérosal. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 flacon (50μl)
SUBS TMB	SUBSTRAT La solution tampon contient du 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB). Conservez à l'abri de la lumière entre 2°C et 8°C.	1 bouteille (12,5ml)
SOLN STOP H ₂ SO ₄ 1M	SOLUTION D'ARRÊT Solution d'acide sulfurique à 2M. Conservez entre 2°C et 8°C.	1 bouteille (30ml)
	FILMS COUVRE-PLAQUE Films adhésifs pour microplaque à utiliser durant l'incubation	4 exemplaires
	INSTRUCTIONS D'UTILISATION	1 exemplaire

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

- Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
- Pour utilisation professionnelle uniquement.
- Consulter l'étiquetage du produit pour des informations sur les composants potentiellement dangereux.

PRÉCAUTIONS SANITAIRES ET DE SÉCURITÉ



ATTENTION: Ce kit contient des matériaux d'origine humaine. Aucune méthode de test ne peut totalement garantir que les produits à base de sang humain ne transmettront pas d'infection.

MANIPULEZ LES SPÉCIMENS, LES PRODUITS RÉACTIFS ET NON-RÉACTIFS COMME S'ils ÉTAIENT DES AGENTS POTENTIELLEMENT INFECTIEUX. Il est recommandé de manipuler les composants et les spécimens de test en respectant les bonnes pratiques de travail en laboratoire. Ces produits doivent être mis au rebut en accord avec les procédures de sécurité en vigueur.

Le *contrôle réactif* et le *contrôle non-réactif* contiennent 0,005 % de thimérosal et 0,1 % d'azide de sodium. L'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb utilisés dans certains systèmes de plomberie et former des sels explosifs. Les quantités utilisées dans ce kit sont peu importantes, mais les matériaux contenant de l'azide, lors de leur mise au rebut, doivent être évacués avec beaucoup d'eau pour éviter qu'ils ne s'accumulent dans la tuyauterie.

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

Composant:	TAMPON DE LAVAGE CONCENTRE (20x)
Terme d'avertissement:	avertissement
Pictogramme:	
Mentions de danger:	H317 Peut provoquer une allergie cutanée.
Mentions de précautions:	P261 Éviter de respirer les poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. P272 Les vêtements de travail contaminés ne devraient pas sortir du lieu de travail. P302+P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. P333+P313 En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: Consulter un médecin.
Mentions supplémentaires:	fiche de données de sécurité EUH210 disponible sur demande
Contient:	2 % Chloroacétamide

COLLECTE, TRANSPORT ET STOCKAGE DES SPÉCIMENS

N'utilisez que des échantillons de sérum sanguin ou de plasma collectés dans de l'EDTA, de l'héparine, du citrate de sodium, de l'oxalate de K ou de l'acide-citrate-dextrose (ACD). Avant le stockage, assurez-vous que les caillots sanguins ou les cellules sanguines ont été séparés par centrifugation.

Il est recommandé d'utiliser des spécimens frais plutôt que des spécimens qui ont été soumis à des cycles répétés de gel-dégel. Les spécimens doivent être conservés à une température comprise entre 2°C et 8°C si le test est effectué dans les 7 jours après la collecte ou ils doivent être congelés à ≤ -20°C si le test est effectué après plus de 7 jours. De plus, il est possible d'utiliser jusqu'à 0,1 % d'azide de sodium pour stabiliser les spécimens de sérum ou de plasma stockés entre 2°C et 8°C.

Il est préférable d'utiliser des échantillons clairs et non hémolysés. Les échantillons lipidiques, ictériques ou contaminés (par des particules) doivent être filtrés (0,45 μm) ou centrifugés avant le test.

L'échantillon peut être inactivé, ce qui n'affectera pas les performances optimales du test.

Inactiver comme suit :

- Desserrer le capuchon du conteneur d'échantillon.
- L'échantillon peut être inactivé si on le plonge pendant 30 minutes dans un bain d'eau à 56°C.
- Laisser l'échantillon se refroidir avant de resserrer le capuchon.
- L'échantillon peut être conservé réfrigéré jusqu'à l'analyse.

Il n'est pas recommandé de procéder à des décongélations répétées.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE NON FOURNI

- Papier absorbant pour pailleuse et serviettes en papier jetables.
- Tubes ou contenants en polypropylène.
- Pipettes graduées: 5 ml, 10 ml.
- Pipetteur à canaux multiples capable de délivrer 20 μl, 100 μl, et 200 μl.
- Pipetteur capable de délivrer 1-1000 μl.
- Embouts de pipette jetables.
- Réservoirs de réactifs (rectangulaires) d'une capacité de 25 ml.
- Réactifs de qualité, eau déionisée ou distillée.
- Flacons : 500 ml, 1 litre.
- Nettoyeur de microplaques ELISA. Le nettoyage peut également être effectué manuellement à l'aide d'un pipetteur multicanaux délivrant 0,3 ml et un dispositif d'aspiration.
- Incubateur 37 ± 1°C.
- Lecteur pour microplaques à double (A₄₅₀-A₆₂₀) ou simple (A₄₅₀) longueur d'onde.
- Agent désinfectant efficace.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

- CONJUGUÉ DE TRAVAIL**
 - LE CONJUGUÉ DE TRAVAIL** doit être préparé immédiatement avant emploi.
 - Mélangez bien le **CONJUGUÉ** et le **DILUANT** avant emploi. **NE CENTRIFUGEZ PAS** le mélange.

Composant:	SOLUTION D'ARRÊT
Terme d'avertissement:	Danger
Pictogramme:	
Mentions de danger:	H315 Provoque une irritation cutanée. H319 Provoque une sévère irritation des yeux.
Mentions de précautions:	P264 Se laver mains soigneusement après manipulation. P280 Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage. P312 Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise. P362 Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation P302+P352 EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment à l'eau et au savon. P332+P313 En cas d'irritation cutanée: consulter un médecin. P337+P313 Si l'irritation oculaire persiste: consulter un médecin. P305+P351+P338 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.
Mentions supplémentaires:	fiche de données de sécurité EUH210 disponible sur demande
Contient :	11,2 % d'acide sulfurique

- Évitez la contamination microbienne des réactifs lors de l'ouverture des flacons ou des bouteilles d'origine et du prélèvement des aliquotes.
- N'utilisez pas la pipette avec la bouche.
- Manipulez les spécimens, les microplaques, les contrôles réactifs et non-réactifs comme s'ils étaient des agents potentiellement infectieux.
- Portez des vêtements de laboratoire et des gants jetables pendant le déroulement du test. Jetez les gants dans des sacs poubelles destinés aux matériaux présentant un danger biologique. Lavez-vous bien les mains après le test.
- Il est fortement recommandé d'effectuer ce test dans un local spécialement conçu pour les manipulations présentant un danger biologique.
- Maintenez les produits à distance des aliments et des boissons.

