

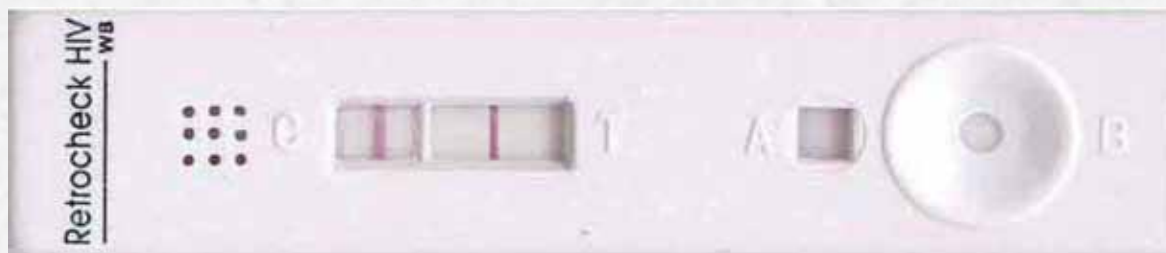
#### **IV - Procédures à suivre :**

##### **L'échantillon à tester est nécessairement un sérum prélevé au pli du coude sur tube sec à bouchon rouge :**

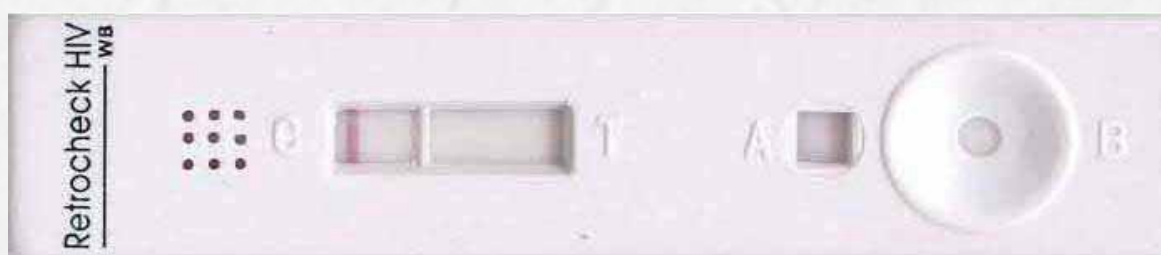
- Soit après centrifugation, soit par décantation de journée (se référer au FOS de ponction veineuse au pli du coude)
- Transférer l'échantillon (sérum) dans le cryotube bien droit dans un portoir
- Enregistrer le client avec son code client dans le registre de laboratoire
- Mettre à la température ambiante les échantillons (sérum) pendant 20min si sortis du réfrigérateur
- Si décantation : manipuler immédiatement le sérum le même jour
- Vérifier la date d'expiration du kit du test Retrocheck
- Sortir le nombre de tests nécessaires de leur enveloppe et le tampon réactif.
- Transcrire le code du client sur le test
- Déposer une goutte avec les pipettes de transfert ou 50µl avec une micropipette de l'échantillon (sérum) dans le puits à l'aide de micropipette 20 à 200µl dans le puits A
- Jeter dans un container pour objet non tranchant l'embout à usage unique
- Déposer 5 gouttes du tampon du kit dans le puits B en tenant verticalement le tampon
- Fermer le flacon du tampon
- Régler la minuterie à 15 mn
- Attendre l'alarme de la minuterie et lire immédiatement le résultats (ni avant ni après 15 mn).

## V- Interprétation des résultats :

### RETROCHECK VIH POSITIF



### RETROCHECK VIH NEGATIF



## RESULTATS

<b>Positif (réactif)</b>	<b>Négatif (non réactif)</b>	<b>Invalide</b>
<u>Apparition de 2 traits dont :</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• 1 sur le Contrôle (C)</li><li>• 1 sur le Test (T)</li></ul>	<u>Apparition d'1 trait dont :</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• 1 sur le Contrôle (C)</li><li>• Et rien sur le Test (T)</li></ul>	<u>Rien sur le Contrôle (C):</u> <ul style="list-style-type: none"><li>• Et rien ou 1 trait sur le Test (T)</li></ul>

### **N.B : Mesures correctives en cas de test invalide :**

Il faut écrire dans une fiche de mesure corrective les procédures suivantes :

1. répéter le test en veillant à suivre correctement toute la procédure du POS ci-dessus
2. si le problème d'invalidité de test persiste :
  - Informer votre supérieur (responsable du laboratoire ou centre de dépistage)
  - Signaler l'incidence par écrit au LNR en précisant le lot, la date d'expiration, le lieu de stockage du kit de RETROCHECK VIH dans votre Centre.



## PROCEDURES OPERATOIRES STANDARDS (POS) POUR UNIGOLD VIH

### Caractéristiques

Pour la détection d'anticorps anti-VIH-1/VIH-2, test rapide immuno chromatographique à flux latéral, test T3 de l'algorithme de dépistage de VIH à Madagascar

### I-Lieu de stockage du kit d'Unigold :

- à température ambiante, sec, à l'abri du rayon du soleil et de la chaleur

### II- Matériels nécessaires:

- Gants
- Blouse
- Alèse
- Pour le prélèvement sanguin : aiguille et tube vacutainer, alcool, coton ou compresse ou aliquot de sérum
- Kit complet : tests, flacon de tampon, pipette fournie
- Minuterie à 60 mn
- Portoir pour cryotubes de sérum
- Container pour objets tranchants (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Poubelle pour déchets souillés contenant un sachet débordant
- Eau de Javel 12°
- Marqueur permanent.

### III- Procédures à suivre:

- **L'échantillon à tester s'agit toujours de sérum à partir de prélèvement au pli du coude sur tube sec à bouchon rouge :**
- Soit après centrifugation, soit par décantation de ½ journée (se référer au FOS de ponction veineuse au pli du coude)
- Manipuler tout de suite après décantation :
  - Disposer l'échantillon (sérum) dans le cryotube bien droit dans un portoir
  - Enregistrer le client avec son code client dans le registre de laboratoire
  - Vérifier la date d'expiration du kit de test d'Uni-gold VIH
  - Sortir le nombre de tests nécessaires de leur enveloppe
  - Sortir la pipette de transfert et le flacon de tampon
  - Transcrire le code du client sur le test
  - Prélever un peu d'échantillon (sérum) avec la pipette fournie par pression des doigts de la partie médiane de la pipette
  - Verser 2 gouttes (ou 60µl) de l'échantillon (sérum) de la pipette fournie dans le puits « sample ».

- Jeter dans un container pour objet tranchant l'embout à usage unique et/ou la pipette de transfert
- Prendre le flacon de tampon dans le kit et le tenir verticalement au dessus du puit « sample »
- Verser ensuite 2 gouttes du tampon par pression 2 fois successives au niveau du flan du flacon dans le puits « sample »
- Fermer le flacon
- Régler la minuterie à 10mn
- Attendre l'alarme de la minuterie après 10min pour la lecture du résultat (ni avant ni après 10mn)
- Lire le résultat du test tout de suite en se référant aux figures suivantes et transcrire le résultat dans le cahier de registre de laboratoire.

#### **IV- Interprétation des résultats :**



Apparition de 2 traits dont :

- 1 sur le Contrôle (C)
- 1 sur le Test (T)

**Résultat : test Réactif**  
**POSITIF (+)**

Apparition d'1 trait dont :

- 1 sur le Contrôle (C)
- Et rien sur le Test (T)

**Résultat : Non Réactif**  
**NEGATIF (-)**

Rien sur le Contrôle (C) :

- Et rien ou 1 trait sur le Test (T)

**Résultat : INVALIDE**

#### **N.B : Mesures correctives en cas de test invalide :**

Il faut écrire dans une fiche de mesures correctives les procédures suivantes :

1. répéter le test en veillant à suivre correctement toute la procédure du FOS ci-dessus
2. si le problème d'invalidité de test persiste :
  - Informer votre supérieur (responsable du laboratoire ou centre de dépistage)
  - Signaler l'incidence par écrit au LNR en précisant le lot, la date d'expiration et le lieu de stockage du kit d'UNIGOLD VIH dans votre Centre.



### **Caractéristiques**

C'est un test immuno enzymatique indirect en phase solide.

Test discriminant permettant l'identification du type de virus VIH-1 ou VIH-2 par la détection d'anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2.

### **I-Lieu de stockage du kit IMMUNOCOMB II VIH 1/2 BiSpot :**

- à conserver dans un réfrigérateur +2°C à +8°C

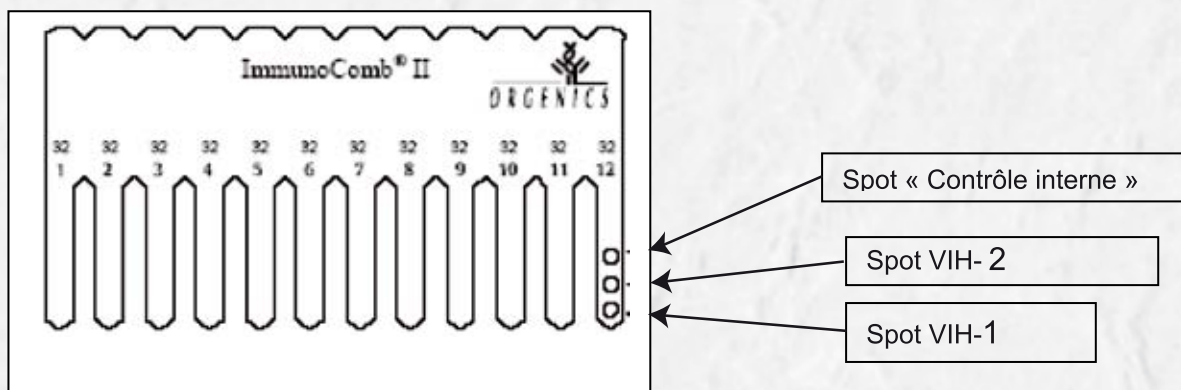
### **II- Matériels nécessaires :**

- Gants
- Blouse
- Alèse
- Papier absorbant propre
- Pour le prélèvement sanguin : aiguille et tube vacutainer, alcool, coton ou compresse
- Aliquot de sérum, ou de plasma
- Kit complet :
  - o Peigne à 6 paires de dents
  - o Bac de développement à 6 compartiments ou bac de réaction
  - o Contrôle positif (bouchon rouge)
  - o Contrôle négatif (bouchon vert)
  - o Spatule perforatrice
- Minuterie à 60 mn
- Micropipette 20 à 200µl
- Embouts stériles 20 à 200µl
- Une paire de ciseaux
- Container pour objets tranchants (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Poubelle pour déchets souillés (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Eau de Javel 12°
- Marqueur permanent.

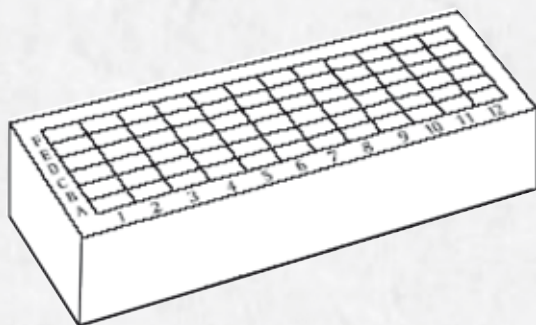
## Le principe général du test IMMUNOCOMB VIH 1/2 BiSpot

Le Test « ImmunoComb VIH 1/2 BiSpot » est un Test Immunoenzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

- Spot supérieur : Anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines (Contrôle Interne)
- Spot médian : Peptides synthétiques VIH-2
- Spot inférieur : Peptides synthétiques VIH-1



Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré-distribués dans le bac de réaction. Le bac de réaction est divisé en 6 compartiments (A à F) de 12 puits chacun. Chaque compartiment correspond à un réactif et à une étape du test. Le déroulement du test consiste à transférer le peigne d'un compartiment à un autre.



A-B-C-D-E-F : Compartiments de réaction  
A : Solution de dilution des échantillons  
B et E : Solution de lavage  
C et D : Conjugué  
F : Substrat



### III- Procédure à suivre pour le dépistage de VIH par IMMUNOCOMB II VIH 1/2 BiSpot

- L'échantillon à tester est toujours du sérum à partir de prélèvement veineux sur tube sec à bouchon rouge :
- Préparation des échantillons
  - Soit après centrifugation, soit par décantation de ½ journée (se référer au FOS de ponction veineuse au pli du coude)
  - Disposer l'échantillon (sérum) dans le cryotube bien droit dans un portoir
  - Enregistrer le client avec son code client dans le registre de laboratoire
  - Mettre à la température ambiante les échantillons (sérum) pendant 20min si sortis du réfrigérateur avant l'exécution du test
  - Si décantation : manipuler immédiatement le sérum le même jour.
- Préparation des réactifs
  - Vérifier la date d'expiration du kit du test
  - Avant la manipulation, mettre à la température ambiante pendant 3h tous les tests et les réactifs ou incuber le bac de réaction à 37°C pendant 30min dans une étuve ou bain marie
  - Homogénéiser les réactifs par retournement du bac de développement ou de réaction.

**Remarque :** Ne pas retirer le film d'aluminium recouvrant le bac de réaction, le perforer seulement à l'aide du perforateur fourni avec le coffret.

- Préparation du Peigne
  - Découper la pochette d'Aluminium au niveau de l'encoche et sortir le peigne délicatement
  - Transcrire le code du client sur une dent de la peigne. Procéder de façon à ne jamais toucher les dents du peigne.

**Attention :** Afin de garantir le bon fonctionnement du test, ne pas toucher les dents du Peigne. Peigne et Bac de réaction peuvent être utilisés soit entièrement, soit partiellement.

Pour une utilisation partielle du Peigne, déterminer le nombre de dents nécessaires pour tester les échantillons et les contrôles, en comptant une dent par test. Afin de permettre l'identification des dents en cas d'utilisation partielle du Peigne, chaque dent porte le code " 32 " correspondant au coffret HIV 1/2 BiSpot, les N°1 à 12 correspondent à l'identification des patients.

- A l'aide d'une paire de ciseaux détacher le nombre de dents nécessaires (Nb d'échantillons + les deux contrôles)
- Ranger la section du peigne non utilisée dans la pochette en aluminium avec le sachet dessicant. Sceller hermétiquement la pochette (par exemple

à l'aide d'un trombone) afin de prévenir toute humidité. Conserver le Peigne dans son conditionnement d'origine entre + 2° et + 8°C pour un usage ultérieur.

### **Les étapes de la manipulation :**

#### **- Dans le compartiment « A » (réaction Ag-Ac) :**

- Perforer avec la spatule perforatrice le film d'aluminium d'un seul puits du compartiment « A »
- Ajouter 50µl d'échantillon à tester dans ce même puits et mélanger par aspiration et refoulement successif
- Répéter ce procédé pour tous les échantillons à tester et les contrôles. en changeant d'embout pour chaque échantillon et en utilisant d'autre puits du compartiment « A ».

#### **NB : pour un échantillon un embout et un puits**

- Insérer le peigne (face imprimée vous faisant face) dans les puits du compartiment « A »
- Homogénéiser en réinsérant plusieurs fois le peigne dans les puits.
- Laisser incuber 10 mn. exactement à température ambiante (il faut utiliser un minuteur) Homogénéiser 2 fois supplémentaires pendant l'incubation
- Perforer avec la spatule le film d'aluminium des puits nécessaires du compartiment B au terme des 10mn
- Retirer le peigne après 10mn et appliquer les pointes des dents du peigne sur le papier absorbant pour enlever le liquide résiduel.

#### **- Dans le compartiment « B » (Premier lavage) :**

- Insérer le peigne dans les puits du compartiment « B ». Réinsérer plusieurs fois pendant 10s
- Répéter ce procédé et incuber 2min pour lavage correct
- Perforer avec le perforateur le film d'aluminium des puits nécessaires du compartiment « C »
- Retirer le peigne et appliquer les pointes des dents du peigne sur le papier absorbant.

#### **- Dans le compartiment « C » (Premier Conjugué) :**

- Insérer le peigne dans les puits du compartiment « C ». Réinsérer plusieurs fois pendant 10s
- Incuber pendant 10mn
- Perforer avec le perforateur le film d'aluminium des puits nécessaires du compartiment « D » au terme de 10mn.



- Retirer le peigne après 10mn et appliquer les pointes de ses dents sur le papier absorbant pour séchage.
- **Dans le compartiment « D » (Deuxième conjugué):**
  - Insérer le peigne dans les puits du compartiment « D ». Réinsérer plusieurs fois pendant 10s
  - Incuber pendant 2 mn
  - Perforer avec le perforateur le film d'aluminium des puits nécessaires du compartiment « E »
  - Retirer le peigne et appliquer les pointes des dents du peigne sur le papier absorbant.
- **Dans le compartiment « E » (Deuxième lavage) :**
  - Insérer le peigne dans les puits du compartiment « E ». Réinsérer plusieurs fois pendant 10s
  - Répéter ce procédé et incuber 2mn pour lavage correct
  - Perforer avec le perforateur le film d'aluminium des puits nécessaires du compartiment « F »
  - Retirer le peigne et appliquer les pointes des dents du peigne sur le papier absorbant.
- **Dans le compartiment « F » (Révélation) :**
  - Insérer le peigne dans les puits du compartiment « F ». Réinsérer plusieurs fois pendant 10s
  - Incuber pendant 10mn
  - Retirer le peigne.
- **Dans le compartiment « E » (Réaction d'arrêt) :**
  - Insérer le peigne dans les puits du compartiment « E ».
  - Incuber pendant 1mn
  - Retirer le peigne et laisser sécher à l'air.

#### IV- Interprétation des résultats :

**Résultat négatif** : Coloration du spot **Contrôle interne** seulement



#### **Résultat positif :**

1- Coloration du spot **contrôle interne** et du spot **médiane** : « **Positif VIH-2** »



Ou

2- Coloration du spot **contrôle interne** et du spot **inférieur** : « **Positif VIH-1** »



**Note** : Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un spot secondaire faible associé à un spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue.



**Résultat invalide** : Absence du spot **contrôle interne**, avec ou sans la présence du spot **médiane** et spot **inférieur** => **Refaire le test avec d'autre peigne.**

