

# TeSeE SAP Combi Kit

## Protocole rapide

Σ 192

REF 3551186

Σ 384

REF 3551192

Σ 768

REF 3551191

---

### TROUSSE DE RÉACTIFS POUR LA PURIFICATION ET LA DÉTECTION *IN VITRO* DE LA PrP<sup>Sc</sup> SUR LES BOVINS, OVINS, CAPRINS ET CERVIDÉS

---

Ce test est approuvé, au sein de la communauté Européenne, pour le dépistage de la BSE et de la scrapie chez les bovins, ovins et caprins, tel que défini dans l'Annexe III, chapitre A de la réglementation (CEE) No 999/2001.

Le Laboratoire de Référence Européen des ESST (TSE EURL) spécifie dans ses recommandations, que seuls les tests rapides de dépistages des ESST, ayant été validés et approuvés par l'USDA et le CFIA sur tissus de cervidés, peuvent être utilisés pour la détection de la Cachexie Chronique (Syndrome de Dégénérescence Chronique) chez les cervidés. Il est conseillé aux pays membres de l'UE engagés dans une surveillance ciblée des cervidés, de se référer aux recommandations du TSE EURL (TSE EU Reference Laboratory Guidelines for the detection of Chronic Wasting disease in cervids, <ftp://ftp.izsto.it/EURL%20TSE/RAPID%20TESTS/Test%20protocols/>).

Ce test a été soumis à un processus de validations et été approuvé par l'USDA et le CFIA, pour la détection de la Cachexie Chronique chez les cervidés.



2020/06

**BIO-RAD**

## TABLE DES MATIÈRES

### 1 - GÉNÉRALITÉS

#### 2 - Kit TeSeE SAP Combi

2-1 Principe

2-2 Échantillons

2-3 Composition des TeSeE SAP Combi Kits

2-4 Préparation des réactifs

2-5 Conservation, validité

2-6 Mode opératoire

2-7 Calcul et interprétation des résultats

2-8 Limites du test

#### 3 - MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

#### 4 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

#### 5 - CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

#### 6 - BIBLIOGRAPHIE

## 1 - GÉNÉRALITÉS

Les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) sont des maladies dégénératives lentes du système nerveux central causées par des agents transmissibles atypiques (ATNC) couramment appelés prions.

Les EST sont généralement classées, selon leur étiologie, en EST iatrogènes, familiales et/ou sporadiques. La tremblante du mouton est connue depuis le 18<sup>e</sup> siècle et son caractère transmissible (y compris à la chèvre) est démontré. Toutefois, les modes de contamination au sein des troupeaux restent mal connus. Les EST ont également été décrites chez les cervidés (maladie chronique cachectisante, MCC), ainsi que chez les bovins (encéphalopathie spongiforme bovine, ESB).

L'espèce humaine est également sensible à certaines formes d'EST. Des éléments convaincants tendent à prouver que l'ESB est passée des bovins à l'homme, probablement par consommation de viande contaminée.

Outre cette variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJv), les autres formes humaines d'EST sont le Kuru et la maladie de Creutzfeldt-Jakob iatrogène.

Les formes héréditaires pures (comme le syndrome de Gertsman-Straussfer [SGS]) et/ou la MCJ sporadique ont été démontrées chez l'homme, cependant leur incidence est faible. Nous ignorons si des cas similaires d'EST sporadique existent dans le monde animal.

Les principales caractéristiques de ces maladies sont les suivantes :

- évolution lente, mais toujours fatale,
- absence d'agents infectieux classiques,
- accumulation progressive, dans le système nerveux central, d'une isoforme anormale de la protéine prion naturelle (PrP) appelée PrP<sup>sc</sup>. Cette isoforme se caractérise par des propriétés biochimiques particulières et, notamment, par une plus grande résistance aux protéases.

L'exceptionnelle longueur de la période d'incubation qui précède les symptômes neurologiques laisse penser que les événements importants de la pathogenèse des EST pourraient avoir lieu hors du système nerveux, en particulier dans les tissus lymphoïdes périphériques.

Malgré de nombreuses inconnues et/ou incertitudes, la détection d'une PrP<sup>sc</sup> anormale est aujourd'hui le fondement de la confirmation d'un diagnostic d'EST. Cette détection s'effectue principalement dans les tissus nerveux prélevés post mortem.

De la PrP<sup>sc</sup> anormale a également été détectée dans différents organes et tissus lymphoïdes : dans les centres germinatifs de la rate, les ganglions lymphatiques, les amygdales et/ou les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses (mais à des fins expérimentales), dans des modèles animaux ou des moutons atteints de la tremblante, des cervidés atteints de MCC et des patients atteints de MCJv.

Le test conçu par le CEA (Commissariat à l'Énergie Atomique) développé, produit et commercialisé par Bio-Rad permet la détection de la PrP<sup>sc</sup> dans des échantillons de tissus prélevés chez des animaux.

Ce dosage nécessite les réactifs et accessoires suivants :

- Kit TeSeE SAP Combi (192 tests)	Réf. : 3551186
- Kit TeSeE SAP Combi (384 tests)	Réf. : 3551192
- Kit TeSeE SAP Combi (768 tests)	Réf. : 3551191
- Tubes de broyage (384 tubes)	Réf. : 3551139
- Tubes de broyage (768 tubes)	Réf. : 3551137
- Seringue et aiguille de calibration (x 200)	Réf. : 3551174
ou TSE Calibrat Syringe + Needle VITA (x 200)	Réf. : 12007909
ou Plaques filtrantes (x 50)	Réf. : 3551179
- Microplaques Deepwell (x 50)	Réf. : 3590132
- Medium beads (x 2000)	Réf. : 3551171*

\* Pour les tissus périphériques uniquement.

## 2 - Kit TeSeE SAP Combi

### 2-1 Principe

Les réactifs du kit TeSeE SAP Combi, permettent de purifier, de concentrer, de solubiliser et la détection de la PrP<sup>Sc</sup> dans les échantillons de tissus prélevés chez des animaux infectés.

Le test TeSeE SAP est une technique immuno-enzymatique (sandwich) utilisant 2 anticorps monoclonaux pour la détection de la protéine prion, résistante à la protéinase K, dans des tissus prélevés chez des animaux infectés. Le kit permet de réaliser 192 tests (contrôles inclus).

La phase solide est composée de 12 barrettes de 8 puits en polystyrène, dont les parois sont recouvertes du premier anticorps monoclonal. Le second anticorps monoclonal est marqué à la peroxydase.

### 2-2 Echantillons

• **Bovins** : la purification de la PrP<sup>Sc</sup> est effectuée sur des échantillons de Système Nerveux Central (CNS). L'outil de prélèvement ESB (Réf. : 3551130) peut être utilisé pour la collecte du tronc cérébral.

Comme la distribution de la PrP<sup>Sc</sup> est hétérogène dans le système nerveux central, les prélèvements doivent être faits préférentiellement dans l'obex du tronc cérébral pour une détection optimale.

La seringue de prélèvement (Réf. : 3551175) permet un prélèvement rapide et facile de l'obex, de manière sûre. Veuillez consulter le protocole de prélèvement pour une utilisation détaillée.

• **Petits ruminants et cervidés** : la purification de la PrP<sup>Sc</sup> est effectuée sur des échantillons de Système Nerveux Central (CNS) et/ou\* de tissus périphériques (ganglions lymphatiques, rate,...). L'outil de prélèvement "Petits ruminants" (Réf. : 3551184) peut être utilisé pour la collecte du tronc cérébral et du cerebellum.

Comme la distribution de la PrP<sup>Sc</sup> est hétérogène dans le système nerveux central, les prélèvements doivent être faits préférentiellement dans l'obex du tronc cérébral pour une détection optimale.

Les échantillons sont coupés et pesés individuellement.

*Remarque : Les autres tissus (amygdales, iléon, paupière...) ne peuvent être utilisés que pour la recherche.*

Les échantillons sont conservés à une température de 2-8 °C lorsque la purification est effectuée dans les 24 h, ou congelés si l'on souhaite les conserver plusieurs mois. Ils ne doivent pas être soumis à plus de 3 cycles de congélation-décongélation. Si ces échantillons doivent être transportés, ils doivent être emballés conformément à la réglementation nationale en vigueur.

## 2-3 Composition des TeSeE SAP Combi Kits

DÉSIGNATION	TYPES DE RÉACTIFS	PRÉSENTATION			CONSERVATION
		3551186 (192 tests)	3551192 (384 tests)	3551191 (768 tests)	
<b>Réactif A</b>	Solution de dénaturation	1 flacon (55 ml)	1 flacon (120 ml)	1 flacon (240 ml)	2-8 °C
<b>Réactif B</b>	Solution clarifiante Colorant : bleu de bromophénol	1 flacon (55 ml)	1 flacon (120 ml)	2 flacons (120 ml)	2-8 °C
<b>Réactif C</b>	Tampon de solubilisation Colorant : vert malachite	1 flacon (7 ml)	1 flacon (14 ml)	1 flacon (28 ml)	2-8 °C
<b>PK</b>	Protéinase K Colorant : rouge de phénol	1 flacon (0,5 ml)	2 flacons (0,5 ml)	4 flacons (0,5 ml)	2-8 °C
<b>R1</b>	<b>Microplaque</b> : 12 barrettes de 8 puits sensibilisés avec un anticorps monoclonal anti-PrP	2 plaques	4 plaques	8 plaques	2-8 °C
<b>R2</b>	<b>Solution de lavage</b> : Concentrée 10x Tampon Tris-NaCl pH 7,4 Conservateur : ProClin 300 (0,01 %)	1 flacon (250 ml)	2 flacons (250 ml)	4 flacons (250 ml)	2-25 °C
<b>R3</b>	<b>Contrôle négatif</b> : Tampon PBS pH 7,2 additionné de BSA Conservateur : ProClin 300 (0,1%)	1 flacon (4 ml)	2 flacons (4 ml)	4 flacons (4 ml)	2-8 °C
<b>R4</b>	<b>Contrôle positif</b> : Tampon PBS pH 7,4 additionné de peptide de synthèse non infectieux. Lyophilisé. Conservateur : ProClin 300 (0,1 %)	1 flacon (q.s.p. 4 ml)	2 flacons (q.s.p. 4 ml)	4 flacons (q.s.p. 4 ml)	2-8 °C
<b>R6</b>	<b>Diluant échantillons</b> : Tampon PBS pH 7,2 additionné de BSA et de rouge de phénol Conservateur : ProClin 300 (0,1 %)	1 flacon (35 ml)	1 flacon (70 ml)	1 flacon (140 ml)	2-8 °C
<b>R7</b>	<b>Conjugué</b> : Solution 10x d'anticorps monoclonal anti-PrP marqué à la peroxydase, en tampon PBS pH 7,1 additionnée de protéines bovines et de rouge de phénol Conservateur : ProClin 300 (0,1 %)	1 flacon (2,8 ml)	2 flacons (2,8 ml)	4 flacons (2,8 ml)	2-8 °C
<b>R8</b>	<b>Tampon substrat de la peroxydase</b> : Solution d'acide citrique et d'acétate de sodium pH 4,0 contenant 0,015 % d'H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et 4 % de diméthylsulfoxyde (DMSO)	1 flacon (60 ml)	1 flacon (120 ml)	2 flacons (120 ml)	2-8 °C
<b>R9</b>	<b>Chromogène</b> : Solution de tétraméthylbenzidine (TMB)	1 flacon (5 ml)	1 flacon (10 ml)	1 flacon (20 ml)	2-8 °C
<b>R10</b>	<b>Solution d'arrêt</b> : Acide sulfurique 1 N	1 flacon (28 ml)	1 flacon (56 ml)	1 flacon (112 ml)	2-8 °C
	<b>Films adhésifs</b>	<b>8</b>	<b>12</b>	<b>16</b>	

Les réactifs suivants sont des composants génériques : le réactif A, le réactif B, le diluant échantillons (R6), la solution de lavage (R2), le tampon substrat de la peroxydase (R8), le chromogène (R9) et le solution d'arrêt (R10). Ils peuvent être utilisés avec tous les lots des kits TeSeE SAP.

## 2-4 Préparation des réactifs

Avant utilisation, laisser les réactifs des kits TeSeE SAP Combi revenir à température ambiante (18-30 °C) pendant 30 min.

### 1 - Réactifs prêts à l'emploi

Les réactifs A, B, C, le contrôle négatif (R3), le diluant des échantillons (R6) et la solution d'arrêt (R10) sont prêts à l'emploi.

#### Microplaques (R1) :

Avant ouverture du sachet, laisser la microplaque revenir à température ambiante (18-30 °C) dans son emballage protecteur muni d'un dessiccant, afin d'éviter toute condensation d'eau dans les puits. Ouvrir au point de soudure et remettre immédiatement les barrettes inutilisées dans le sachet.

Refermer hermétiquement le sachet après avoir pris soin de chasser l'air. Conserver de 2-8 °C.

### 2 - Réactifs à reconstituer

#### Protéinase K :

Le réactif A est le tampon de dilution de la protéinase K.

La solution doit être préparée de la manière suivante (4 µl de protéinase K dans 1 ml de réactif A) :

NOMBRE D'ÉCHANTILLONS	RÉACTIF A	PROTÉINASE K
2	1 ml	4 µl
10	3 ml	12 µl
18	5 ml	20 µl
26	7 ml	28 µl
34	9 ml	36 µl
42	11 ml	44 µl
50	13 ml	52 µl
58	15 ml	60 µl
66	17 ml	68 µl
74	19 ml	76 µl
82	21 ml	84 µl
90	23 ml	92 µl

Les volumes indiqués doivent être mesurés avec exactitude. Rincer l'embout de la pipette contenant la PK par plusieurs cycles d'aspiration/distribution dans le réactif A.

Après reconstitution, homogénéiser la solution par des retournements successifs du flacon jusqu'à obtention d'une solution rouge uniforme.

#### Solution de lavage (R2) :

Diluer la solution de lavage R2 au 1/10<sup>e</sup> dans de l'eau distillée ou ultrapure (par exemple 100 ml de réactif R2 dans 900 ml d'eau distillée).

#### Control positif (R4) :

Taper doucement le flacon de contrôle positif (R4) sur la pailleuse pour détacher le produit adhérant éventuellement au bouchon de caoutchouc. Ouvrir le flacon et dissoudre son contenu dans 4 ml de diluant R6. Reboucher le flacon et laisser reposer pendant environ 1 min en homogénéisant délicatement et régulièrement pour faciliter la dissolution.

#### Conjugué (R7) :

Diluer le réactif R7 au 1/10<sup>e</sup> dans la solution de lavage fraîchement reconstituée (par exemple : 0,1 ml de réactif R7 dans 0,9 ml de solution de lavage reconstituée), sachant que 1 ml de conjugué est suffisant pour traiter 1 barrette. Homogénéiser délicatement. Ne pas mélanger au vortex.

### Solution de développement enzymatique (R8 + R9) :

Diluer le réactif R9 au 1/11e dans le réactif R8 (par exemple : 0,1 ml de réactif R9 dans 1 ml de réactif R8), sachant que 1,1 ml de solution de révélation enzymatique est suffisant pour 1 barrette. Homogénéiser délicatement. Ne pas mélanger au vortex.

## 2-5 Conservation, validité

Les kits TeSeE SAP Combi doivent être conservés de 2-8 °C. À cette température, tous les réactifs sont stables jusqu'à la date indiquée sur le kit (avant et après l'ouverture des flacons).

Après reconstitution, la solution de protéinase K conservée à température ambiante (18-30 °C) doit être utilisée dans les 6 h qui suivent.

Après préparation, les réactifs ont les stabilités suivantes :

ÉTIQUETAGE	RÉACTIFS	VALIDITÉ
R1	Microplaque en sachet hermétiquement fermé	1 mois de 2-8 °C
R2	Solution de lavage diluée	24 h à température ambiante (18-30 °C) 2 semaines de 2-8 °C
R4	Contrôle positif reconstitué	2 h à température ambiante (18-30 °C) 4 h de 2-8 °C 6 mois à -20°C Il est conseillé de fractionner la solution reconstituée en aliquots de 0,5 ml et de les congeler immédiatement à -20°C. Ne pas aller au-delà de 3 cycles de congélation-décongélation successifs
R7	Conjugué reconstitué (dans la solution de lavage diluée)	8 h à température ambiante (18-30 °C)
R8 + R9	Solution de révélation	6 h à température ambiante (18-30 °C), impérativement à l'obscurité

## 2-6 Mode opératoire

Pour le traitement semi-automatique du protocole de purification, veuillez consulter le manuel d'utilisation du système TeSeE NSP.

### Protocole manuel :

#### 1. Échantillonnage :

- Pour les obex, prélever une masse de 350 ± 40 mg de tissu nerveux.
- Pour les tissus périphériques, (ganglions lymphatiques, rate,...) une bille de taille moyenne ("Medium bead", Réf. : 3551171) doit être placée dans le tube de broyage, avant d'ajouter l'échantillon. Prélever une masse de 200 ± 20 mg de tissu, à 2-3 endroits différents du cortex externe du ganglion. Découper en 2-3 plus petits morceaux.

Déposer les échantillons dans les tubes de broyage, bien les fermer et passer à l'étape de broyage dans l'homogénéisateur (systèmes Ribolyser ou TeSeE PRECESS 24 ou TeSeE PRECESS 48 ou Precellys Evolution).

*Note: Suite aux conclusions de l'EFSA reprises dans "Scientific Opinion on chronic wasting disease (II), EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ), EFSA Journal 2018; 16(1):5132, 59 pp.", le TSE EUURL recommande dans son guide technique (TSE EU Reference Laboratory Guidelines for the detection of Chronic Wasting disease in cervids, <ftp://ftp.izsto.it/EURL%20TSE/RAPID%20TESTS/Test%20protocols/>) d'effectuer le dépistage du CWD chez les cervidés, sur l'obex et les ganglions lymphatiques, afin d'optimiser la sensibilité de la surveillance. Contacter le Laboratoire National de Référence, pour des informations complémentaires.*

*Note: En Allemagne, les échantillons de tissu cérébral et de ganglions lymphatiques doivent être analysés en parallèle.*

## 2. Broyage des échantillons :

**Note: Ne pas utiliser le TeSeE Precess 24 quand la bille de taille moyenne est ajoutée dans le tube, car des fuites peuvent se produire.**

Placer les tubes dans la couronne de l'homogénéisateur. Effectuer un cycle d'agitation avec les paramètres suivants :

	Tissus nerveux		Tissus périphériques	
	Ribolyser	TeSeE Precess 48 TeSeE Precess 24 Precellys Evolution	Ribolyser	TeSeE Precess 48 Precellys Evolution
Temps (sec.)	45	-	45	-
Vitesse	6.5	-	6.5	-
Nombre de cycles	2	N/A	2	N/A
Programme	-	Programme 1 / TSE1	-	Programme 2 / TSE2

Attendre 5 min entre les 2 cycles de broyage.

Lorsque le broyage est insuffisant, 1 ou 2 autres cycles d'agitation peuvent être effectués, en s'assurant que la température du tube revient à température ambiante (18-30 °C) entre chaque cycle (au moyen de glace pilée, par exemple).

## 3. Transfert d'échantillon :

Retirer les tubes de broyage de l'homogénéisateur. Remettre en suspension l'homogénat en retournant les tubes avant de les ouvrir.

Transférer l'homogénat avec une des méthodes suivantes :

### • Méthode seringue de calibration

Prélever 250 µl avec la seringue de calibration (Réf. : 3551174 ou Réf. : 12007909), en prenant soin de plonger l'aiguille dans le culot de billes pour éviter de prélever des fragments de tissus mal homogénéisés. Transférer chaque échantillon de 250 µl dans un micro-tube type Eppendorf de 2 ml ou dans une plaque Deepwell (Réf. : 3590132).

### • Méthode plaque de filtration

Le transfert et la filtration sont effectués séparément à l'aide de la plaque de filtration (Réf. : 3551179) et une plaque Deepwell (Réf. : 3590132) en utilisant une des deux techniques suivantes :

#### - Technique du vide :

Ajuster la plaque Deepwell (Réf. : 3590132) dans le fond du manifold, placer le couvercle du manifold et la plaque de filtration (Réf. : 3551179). Prélever 400 µl au moins ( $\leq 1000 \mu\text{l}$ ) à l'aide d'un cône de 1 000 µl et transférer dans chaque puits de la plaque de filtration (Réf. : 3551179) en excluant les six premières positions (de A1 à F1). Placer un film plastic sur la plaque de filtration. Régler la consigne de la pompe (Réf. : 3593350) à 25,4 cm Hg ( $\pm 2.5 \%$ ). Allumer l'appareil, vérifier le niveau de vide sur le manomètre, puis ouvrir la valve du manifold et appliquer ce vide pendant 1 min  $\pm$  6 s. Fermer la valve, éteindre la pompe et libérer le vide du manifold.

#### - Technique de la centrifugation :

Prélever 400 µl au moins ( $\leq 1000 \mu\text{l}$ ) à l'aide d'un cône de 1 000 µl et transférer dans chaque puits de la plaque de filtration (Réf. : 3551179) préalablement ajusté sur une plaque Deepwell (Réf. : 3590132) (la plaque mère), exclure les 6 premières positions (de A1 à F1). Placer un film plastic sur la plaque de filtration.

Centrifuger le système plaque de filtration + plaque Deepwell pendant 1 min à 500 g, en s'assurant que la plaque de filtration et la Deepwell soient correctement assemblées.

*Remarque : La centrifugeuse doit être équipée d'un rotor de microplaque (Réf. : 3590136) pour la centrifugeuse 5804R d'Eppendorf (Réf. : 3591396).*

Après l'une ou l'autre des techniques, éliminer la plaque de filtration et transférer 250 µl d'échantillon filtré dans une autre Deepwell (la plaque de purification) pour le protocole manuel ou placer directement la plaque mère à bord du NSP (cf le manuel utilisation du TeSeE NSP).

*Remarque : A ce stade, les tubes de broyage après homogénéisation, les micro-tubes et la plaque Deepwell après transfert peuvent également être conservés, fermés :*

	A température ambiante (18-30 °C) pendant 8 h	A 2-8 °C (dans de la glace ou au réfrigérateur) pendant 15 h	A -20°C pendant 1 an*
Tubes de broyage et micro-tubes	Oui	Oui	Oui
Plaque Deepwell	Oui	Oui	

\* Les échantillons congelés doivent être décongelés à température ambiante (18-30 °C). Les échantillons peuvent être soumis à 3 cycles de congélation/décongélation au maximum. Les échantillons doivent toujours être homogénéisés par retournements avant usage.

#### 4. Traitement par la PK :

Répartir 250 µl (± 10%) de solution de protéinase K diluée (voir paragraphe 2.4) dans chaque micro-tube ou puits de plaque Deepwell. Ne pas dépasser un intervalle de 5 min pour la répartition de la protéinase K reconstituée entre le premier et le dernier échantillon. Mélanger immédiatement après avoir ajouté la protéinase K. Les micro-tubes fermés et les plaques Deepwell recouvertes d'un film aluminium sont homogénéisés par retournements (10 fois). Ne pas dépasser 2 min entre l'homogénéisation et l'incubation à 37 °C. Incuber à 37 ± 2 °C dans un bloc chauffant pendant 10 ± 1 min.

*Remarque : Pour l'incubation des Deepwell, le bloc chauffant doit être équipé d'un adaptateur.*

#### 5. Précipitation de la PrP<sup>Sc</sup> avec le réactif B :

Sortir les micro-tubes ou les Deepwell du bloc chauffant, ouvrir les tubes et ajouter 250 µl (± 10 %) de réactif B dans tous les micro-tubes ou puits de Deepwell. Respecter le même ordre de répartition que dans l'étape 4. Ne pas dépasser des intervalles de 2 min entre la sortie de l'incubateur et l'étape d'homogénéisation. L'homogénéisation est effectuée dans les mêmes conditions que dans l'étape 4.

#### 6. Concentration de la PrP<sup>Sc</sup> (centrifugation) :

Dans les 30 min qui suivent le mélange et la distribution du réactif B, centrifuger les micro-tubes ou la Deepwell comme suit :

Centrifugation	Micro-tubes		Plaque Deepwell
Vitesse (g)	20 000	15 000	2 000
Temps (min)	5	7	10
Température (°C)	20	20	4

*Remarque : Pour les plaques Deepwell effectuer un temps d'attente de 5 min à 37 °C ou de 10 min à température ambiante (18-30 °C) avant la centrifugation.*

#### 7. Clarification des échantillons :

Au terme de la centrifugation, éliminer le surnageant par retournement au-dessus d'un récipient pour déchets biologiques. Sécher ensuite les micro-tubes en les retournant sur du papier absorbant pendant 5 min.

Ou disposer la plaque Deepwell sur un DW 40 (Réf : 3590137). Sélectionner le programme 'TSE DW' et choisir le nombre de barrettes à traiter. A la suite de cette étape, les plaques Deepwell doivent être séchées en les retournant sur du papier absorbant pendant 5 min.

Ajouter 25 µl (± 10 %) de réactif C dans tous les micro-tubes ou puits de Deepwell.

Ne pas dépasser un intervalle de 10 min entre la fin du séchage et la répartition du réactif C.

Incuber immédiatement pendant 5 ± 1 min à 100 ± 5 °C. Ne pas dépasser 2 min entre l'addition du réactif C et le début de l'incubation.

*Remarque : Pour l'incubation des Deepwell, le bloc chauffant doit être équipé d'un adaptateur. Sortir les micro-tubes ou Deepwell de l'incubateur et les homogénéiser au vortex (5 sec.  $\pm$  2 sec.). Les échantillons en micro-tubes ou en Deepwell peuvent être conservés 5 h à 2-8 °C ou congelés 72 h à -20 °C. Les échantillons congelés doivent être décongelés à température ambiante (18-30 °C), puis homogénéisés au vortex (5  $\pm$  2 s).*

Les échantillons purifiés (chapitre 2.6) doivent être dilués avec 125  $\mu$ l ( $\pm$  10 %) de réactif R6. Homogénéiser les échantillons dilués au vortex (5  $\pm$  2 s) avant la distribution dans la plaque (R1).

- Sortir de l'emballage protecteur le cadre support et le nombre de barrettes (R1) nécessaire. Remettre les barrettes non utilisées, avec le sachet de déshydratant, dans l'emballage et refermer celui-ci hermétiquement.
- Préparer le contrôle positif (R4), comme décrit au chapitre 2.4.2.
- Pour chaque série de tests et pour chaque plaque, remplir les puits de 100  $\mu$ l ( $\pm$  10%) de contrôle/échantillon dans l'ordre suivant :
  - Puits A1, B1, C1, D1 : contrôle négatif (R3)
  - Puits E1, F1 : de contrôle positif (R4)
  - Puits G1, H1, etc. : d'échantillon, dilué avec le réactif (R6). Chaque échantillon est déposé en un seul puits.
- Recouvrir d'un film adhésif et incubé pendant 30  $\pm$  2 min à 37  $\pm$  2 °C.
- Préparer la solution de lavage (R2).
- Préparer la solution de conjugué (R7).
- Retirer le film adhésif et effectuer 3 cycles de lavage. Les conditions de lavage optimales sont obtenues avec les laveurs PW40, PW41 ou 1575 Bio-Rad, sur le programme TSE 3. Ne pas laisser la microplaque plus de 5 min après le dernier cycle de lavage. Sécher les barrettes par retournement sur du papier absorbant avant l'étape suivante.
- Ajouter 100  $\mu$ l ( $\pm$  10%) de solution de conjugué (R7) dans chaque puits.
- Recouvrir de film adhésif et incubé 30  $\pm$  2 min de 2-8 °C.
- Préparer la solution de révélation enzymatique (R8+R9).
- Retirer le film adhésif et effectuer 5 cycles de lavage. Les conditions de lavage optimales sont obtenues avec les laveurs PW40, PW41 ou 1575 Bio-Rad, sur le programme TSE 5. Ne pas laisser la microplaque plus de 5 min après le dernier cycle de lavage. Sécher les barrettes par retournement sur du papier absorbant avant l'étape suivante.
- Ajouter 100  $\mu$ l ( $\pm$  10%) de solution de révélation (R8+R9) dans chaque puits et placer la microplaque, pendant 30 min  $\pm$  2 min, à l'obscurité et à température ambiante (18-30 °C). Ne pas utiliser de film adhésif pendant cette incubation.
- Ajouter 100  $\mu$ l ( $\pm$  10%) de solution d'arrêt (R10) dans chaque puits dans le même ordre et avec le même rythme de distribution que pour la solution de révélation.
- Essuyer soigneusement le dessous de la plaque et lire les densités optiques en bichromatisme à 450 nm - 620 nm dans les 30 min qui suivent l'arrêt de la réaction (les barrettes doivent toujours être protégées de la lumière avant la lecture).

## Microplate washer parameters

### NAME: TSE 3

EDIT mode function	PLATE	Manifold	STRIPS	Met. (Method)	MODE	CROS SW ASP.	ASP. TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT. WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT. ASP. NUMBER	SHAKE TIME	N° OF CYCLES	SOAKING	MET. INTER	N° OF KITS	KIT INTER
Main parameter	Flat01 (PW40/PW41) Flat 03 (1579)	1"8 (PW40/1575) 2"8 (PW41)	1,2,3,4, 5,6,7,8,9, 10,11,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
Method 1	-	-	-	WASH	Plate	Yes	0.3	800	2.5	W1	0 (PW40/1575) 5 (PW41)	-	-	-	-	3	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0	-	-
Method 2	-	-	-	BOTTOM ASP	Plate	Yes	0.3	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0	-	-	-

### NAME: TSE 5

EDIT mode function	PLATE	Manifold	STRIPS	Met. (Method)	MODE	CROS SW ASP.	ASP. TIME	VOLUME	OVER FLOW	LIQUID	FLOW	BOT. WASH NUMBER	BOTTOM TIME	BOT. ASP. NUMBER	SHAKE TIME	N° OF CYCLES	SOAKING	MET. INTER	N° OF KITS	KIT INTER
Main parameter	Flat01 (PW40/PW41) Flat 03 (1579)	1"8 (PW40/1575) 2"8 (PW41)	1,2,3,4, 5,6,7,8,9, 10,11,12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-
Method 1	-	-	-	WASH	Plate	Yes	0.3	800	2.5	W1	0 (PW40/1575) 5 (PW41)	-	-	-	-	5	30 (PW41) 45 (PW40/1575)	0	-	-
Method 2	-	-	-	BOTTOM ASP	Plate	Yes	0.3	-	-	-	-	-	-	1	-	1	0	-	-	-

### PLATE NAME: FLAT 01 (PW40/PW41) - FLAT 03 (1575)

BOT. SHAPE	ASP. HOR. POS.	CENTERING	ASP. VERT. POS.	BOT. VERT. POS.	B.W. VERT. POS.	HORIZONTAL SPEED	VERTICAL SPEED	ASP. DOWNW. SPEED	DISP. UPW. SPEED	BOT. DOWNW. SPEED	BOT. UPWARD SPEED	SHAKING AMPLITUDE	SHAKING SPEED
Flat	1,4	0,3	13,5	9,5	9,5	6	8	6	9	6	9	1	9

## 2-7 Calcul et interprétation des résultats

### 1) Calcul de la densité optique (DO) moyenne du contrôle négatif

$\overline{OD\ R3}$  = moyenne des 4 valeurs des puits R3

### 2) Calcul de la valeur seuil

#### 2.1 Echantillons bovins et petits ruminants

La valeur seuil est égale à :  $\overline{OD\ R3} + 0,210$

Exemple :

$$\overline{OD\ R3} = 0,020$$

$$\text{Valeur seuil} = 0,020 + 0,210 = 0,230$$

#### 2.2 Echantillons de cervidés

La valeur seuil est égale à :  $\overline{OD\ R3} + 0,110$

Exemple :

$$\overline{OD\ R3} = 0,020$$

$$\text{Valeur seuil} = 0,020 + 0,110 = 0,130$$

### 3) Conditions de validation du test

#### • Contrôle négatif (R3) :

##### a) Validation des valeurs individuelles du contrôle négatif :

La densité optique de chaque contrôle négatif doit être inférieure à 0,150.

Cependant, on peut éliminer au maximum une valeur aberrante lorsque sa densité optique est supérieure ou égale à 0,150.

Le test doit être répété si plus d'une valeur de contrôle négatif dépasse cette limite.

##### b) Homogénéité des valeurs de contrôle négatif :

Calculer la densité optique moyenne des contrôles négatifs sur les valeurs individuelles restantes.

Les valeurs au delà de la moyenne des contrôles négatifs + 40% ( $\overline{OD\ R3} + 40\%$ ) doivent être éliminées.

- Si une valeur de contrôle négatif est éliminée en a), une seule valeur peut être éliminée en b).

- Si aucune valeur de contrôle négatif n'est éliminée en a), au maximum deux valeurs peuvent être éliminées en b).

Le test doit être répété si plus de deux valeurs de contrôle négatif sont éliminées [règles a)+b)].

#### • Contrôle positif (R4):

La moyenne des densités optiques des contrôles positifs (DO R4) doit être supérieure ou égale à 1,000 DO.

Le test doit être répété si la moyenne des densités optiques des contrôles positifs (DO R4) est inférieure à cette limite.

### 4) Interprétation des résultats

Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil sont considérés comme négatifs avec le test TeSeE SAP.

Toutefois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil (valeur seuil -10%) doivent être interprétés avec prudence, et les échantillons correspondants doivent être retestés en duplicats à partir de l'homogénat initial.

Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme initialement réactifs avec le test TeSeE SAP et doivent être retestés en duplicats, à partir de l'homogénat initial, avant l'interprétation finale.

Après répétition de l'essai, l'échantillon est considéré comme positif avec le test TeSeE SAP lorsqu'au moins une des deux mesures est positive (DO supérieure ou égale à la valeur seuil). Il est considéré comme négatif avec le test TeSeE SAP lorsque les deux mesures sont inférieures à la valeur seuil.

Les échantillons retestés en duplicats et trouvés négatifs avec le test TeSeE SAP, mais pour lesquels une des deux valeurs est proche de la valeur seuil (valeur seuil - 10%) doivent être interprétés avec prudence.

## 2-8 Limites du test

Des difficultés peuvent être rencontrées pendant l'étape de broyage si l'on utilise des échantillons déshydratés ou des tissus périphériques. Le cas échéant, l'étape de broyage (étape n°2 du mode opératoire) pourra être répétée plusieurs fois pour ce type d'échantillons.

Un résultat négatif signifie que l'échantillon testé ne contient pas de PrP<sup>Sc</sup> détectable avec les réactifs des kits TeSeE SAP Combi. Toutefois, comme les taux très faibles de PrP<sup>Sc</sup> peuvent ne pas être détectés, un résultat négatif ne peut exclure absolument la possibilité d'une infection.

Tout échantillon donnant un résultat positif reproductible, suivant les critères d'interprétation du test, doit être confirmé par le laboratoire de référence national du pays pour les TSE, ou par le laboratoire de référence de la CEE dans des circonstances exceptionnelles.

## 3 - Matériel nécessaire mais non fourni

- Eau distillée ou eau ultrapure.
- Eau de Javel à 20 000 ppm (concentration finale) et solution de soude 1 M (concentration finale).
- Papier absorbant.
- Gants à usage unique.
- Lunettes de sécurité ou masque à visière.

### Étape de purification :

- Micro-tubes à essais de 2 ml en polypropylène avec capuchons et portoir approprié.
- Pipettes réglables, automatiques ou semi-automatiques, pouvant distribuer des volumes de 20 à 500 µl.
- Homogénéisateur de tissus : systèmes Ribolyser, TeSeE PRECESS 24, TeSeE PRECESS 48 ou Precellys Evolution\*.
- Centrifugeuse\* adaptée aux micro-tubes à essais.
- Incubateur\* pour micro-tubes à essais thermostaté à 37 ± 2 °C et un autre thermostaté à 100 ± 5 °C.

Pour la purification semi-automatique de l'échantillon : système TeSeE NSP.

### Étape de détection :

- Pipettes fixes ou réglables, automatiques ou semi-automatiques, pouvant distribuer des volumes de 50, 100, 200 et 1000 µl.
- Tubes à essais gradués de 10 ml, 20 ml et 100 ml.
- Conteneurs pour déchets contaminés.
- Incubateur pour microplaques thermostaté à 37 ± 2 °C.
- Chambre froide de 2-8 °C.
- Laveur\* de microplaques, automatique ou semi-automatique.
- Lecteur de microplaques\* (muni de filtres 450 nm et 620 nm).
- Système microplaques\* pour l'automatisation des étapes du protocole de test. Les performances du système devront être compatibles avec celles du protocole de test.

\* Contacter Bio-Rad pour obtenir la liste des appareils disponibles.

#### 4 - Précautions d'emploi

La qualité des résultats dépend de l'observation des bonnes pratiques de laboratoire suivantes :

- Les réactifs doivent être conservés à une température de 2-8 °C.
- Ne pas utiliser de réactifs au-delà de la date de péremption.
- La solution de protéinase K reconstituée et conservée à température ambiante (18-30 °C) doit être utilisée dans les 6 h.
- Ne pas mélanger, pendant la même manipulation, des réactifs provenant de différents lots de kits TeSeE SAP, à l'exception des réactifs génériques : solution de lavage (R2), diluant échantillons (R6), tampon substrat de la peroxydase (R8), chromogène (R9), solution d'arrêt (R10), tubes de broyage, réactif A et réactif B.
- Solution de lavage (R2), diluant échantillons (R6), tampon substrat de la peroxydase (R8), chromogène (R9), solution d'arrêt (R10), et les tubes de broyage peuvent être utilisés avec tous les kits de la gamme TeSeE (tests TeSeE, TeSeE SAP et TeSeE sheep/goat).
- Laisser les réactifs revenir à température ambiante (18-30 °C) pendant 30 min avant utilisation.
- Reconstituer soigneusement les réactifs, en évitant toute contamination.
- Ne pas effectuer le test en présence de vapeurs réactives (acides, bases, aldéhydes) ou de poussières, car cela pourrait altérer l'activité enzymatique du conjugué.
- Utiliser uniquement des tubes en polypropylène.
- La verrerie doit être parfaitement lavée et rincée à l'eau distillée ou, de préférence, être constituée de produits à usage unique.
- Ne pas laisser plus de 5 min la microplaque entre la fin du lavage et la distribution des réactifs.
- La réaction enzymatique est très sensible à tous les métaux ou ions métalliques. En conséquence, aucun élément métallique ne doit entrer en contact avec les différentes solutions contenant le conjugué ou le substrat.
- La solution de révélation (tampon du substrat + chromogène) doit être incolore. L'apparition d'une coloration quelques minutes après la reconstitution est signe d'altération du réactif, qui ne doit donc pas être utilisé. La solution de révélation doit de préférence être préparée avec des récipients en plastique à usage unique et du matériel de distribution ou de la verrerie préalablement lavés avec de l'acide chlorhydrique 1 N, rincés à l'eau distillée et séchés. Conserver cette solution à l'abri de la lumière.
- Changer d'embout pour chaque échantillon.
- Le lavage des puits est une étape essentielle de la procédure : respecter le nombre de cycles de lavages recommandé et vérifier que tous les puits sont totalement remplis, puis totalement vidés. Un lavage mal effectué peut donner des résultats incorrects.
- Ne jamais utiliser le même récipient et la même pipette pour ajouter le conjugué et la solution de révélation.

#### 5 - Consignes d'hygiène et de sécurité

D'une façon générale : les conditions d'hygiène, de sécurité et de bonnes pratiques de laboratoire devront être en accord avec la réglementation en vigueur.

- Tous les réactifs du kit sont exclusivement destinés au diagnostic "*in vitro*".
- Porter des gants à usage unique pendant la manipulation des réactifs et des échantillons et se laver les mains soigneusement après la manipulation.
- Ne jamais pipetter à la bouche.
- Utiliser des récipients en polypropylène pour éviter les risques de blessure en cas de bris de verre.
- Tous les matériels entrant en contact avec les échantillons et les solutions de lavage doivent être considérés comme contaminés.
- Éviter d'éclabousser les échantillons ou les solutions contenant des échantillons.
- Les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec de l'eau de Javel à 20 000 ppm. Lorsque le liquide contaminant est un acide, les surfaces contaminées doivent d'abord être neutralisées avec de la soude avant d'utiliser l'eau de Javel. Les surfaces seront rincées à l'eau distillée, séchées avec de l'éthanol et essuyées avec du papier absorbant. Le matériel utilisé pour le nettoyage doit être jeté dans un récipient spécial pour déchets contaminés.

- Les échantillons, le matériel et les produits contaminés doivent être éliminés après décontamination :
  - par trempage dans de la soude 1M (concentration finale) pendant 1 h à température ambiante (18-30 °C).
  - ou par trempage dans de l'eau de Javel à 20 000 ppm pendant 1 h à température ambiante (18-30 °C).
  - ou par autoclavage à 134°C minimum pendant au moins 18 min, à 3 bars de pression.

**Remarque : ne jamais autoclaver de solutions contenant de l'eau de Javel ou le réactif B.**

- Toutes les opérations relatives à la réalisation des tests de dépistage d'une encéphalopathie spongiforme transmissible (EST) font l'objet d'une réglementation et doivent être conduites dans un laboratoire isolé, réservé exclusivement à cet usage et dont l'accès est limité et contrôlé. L'opérateur doit porter une combinaison, des surbottes, des gants et un masque à visière ou un masque simple avec des lunettes de sécurité.
- Les opérateurs doivent recevoir une formation spécifique concernant les risques liés aux agents des EST ou prions et aux modes de décontamination validés pour les agents infectieux «non conventionnels». Les mesures de sécurité biologique doivent être conformes aux recommandations des autorités réglementaires nationales.
- Éviter tout contact du tampon du substrat, du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses.
- Avant élimination, neutraliser et/ou autoclaver toutes les solutions de lavage ou eaux usées de lavage ou tout liquide contenant des échantillons biologiques.
- Pour connaître les recommandations liées aux risques et les précautions relatives à certains produits chimiques contenus dans ce kit, consulter le(s) pictogramme(s) figurant sur les étiquettes et les informations fournies à la fin des instructions d'utilisation. La fiche technique de sécurité est disponible sur [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com).

## 6 - BIBLIOGRAPHIE

1. J. GRASSI, E. COMOY, S. SIMON, C. CREMINON, Y. FROBERT, S. TRAPMANN, H. SCHIMMEL, S.A.C. HAWKINS, J. MOYNAGH, JP DESLYS, G.A.H. WELLS (2001)  
Rapid Test for the preclinical postmortem diagnosis of BSE in central nervous system tissue. *The Veterinary Record* (149) 577-582.
2. JP. DESLYS, E. COMOY, S. HAWKINS, S. SIMON, H. SCHIMMEL, G. WELLS, J. GRASSI, J. MOYNAGH (2001)  
Screening slaughtered cattle for BSE - *Nature* (409) 476-477.
3. E. COMOY (2000)  
Contribution au développement d'un test de diagnostic post mortem des bovins atteints d'Encéphalopathie Spongiforme Bovine.  
Thèse de doctorat vétérinaire (Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort).
4. EUROPEAN COMMISSION  
Directorate General DG XXIV (1999).  
Preliminary Report : The evaluation of tests for the diagnosis of transmissible Spongiform Encephalopathy in bovines.
5. JP. DESLYS (1999)  
Prevention du risque d'Encéphalopathie Spongiforme Subaiguë Trans-missible.  
*La Revue du Praticien* (49) 966-970.
6. R. KNIGHT (1999)  
The relationship between new variant Creutzfeldt-Jakob Disease and Bovine Spongiform Encephalopathy - *Vox sanguinis* (76) 203-208.

7. D. DORMONT (1997)  
Les Agents Transmissibles Non Conventionnels ou prions - Virologie (1) 11-22
8. F. HILLA, M. DESBRULAIS, S. JOINER, KCL SIDLE, I. GOWLAND, J. COLLINGE, LJ. DOEY, P. LANTOS (1997)  
The same prion strain causes C/J disease and BSE - Nature (389) 448-450.
9. Cl. LASMEZAS, JP. DESLYS, O. ROBAIN, D. DORMONT (1997)  
L'agent secret des maladies à prions - La Recherche 46-53.
10. AM. HAYWOOD (1997)  
Transmissible Spongiform Encephalopathies.  
The New England Journal of Medicine (337-25) 1821-1828.
11. J. COLLINGE, KC. SIDLE, J. MEADS, J. IRONSIDE, AF. HILL (1996)  
Molecular analysis of prion strain variation and the aetiology of «new variant» CJD.  
Nature (383) 685-690.
12. RG. WILL, J. IRONSIDE, M. ZEIDLER, SN. COUSENS, K. ESTIBEIRO, A. ALPEROVITCH, S. POSER, M. POCCHIARI, A. HOFMAN, PG. SMITH (1996)  
A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the U.K. - Lancet (347) 911-925.
13. SB. PRUSINER & AL (1993)  
Immunologic and molecular biologic studies of prion protein in Bovine Spongiform Encephalopathy.  
The Journal of Infectious Diseases (167) 602-613

# Seringue de prélèvement

REF 3551175

---

MODE DE PRELEVEMENT POUR LES TESTS DE DEPISTAGE DES EST  
Bio-Rad

---

**BIO-RAD**

## TABLE DES MATIÈRES

### 1 - INFORMATIONS GÉNÉRALES

- 1-1 Collecte de l'échantillon à l'abattoir
- 1-2 Procédure de prélèvement au laboratoire

### 2 - SERINGUE DE PRÉLÈVEMENT Bio-Rad

### 3 - MASSE D'ÉCHANTILLON REQUISE POUR LE TEST

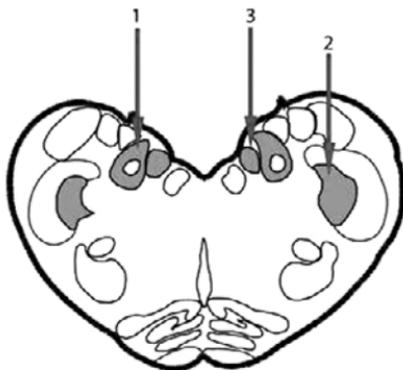
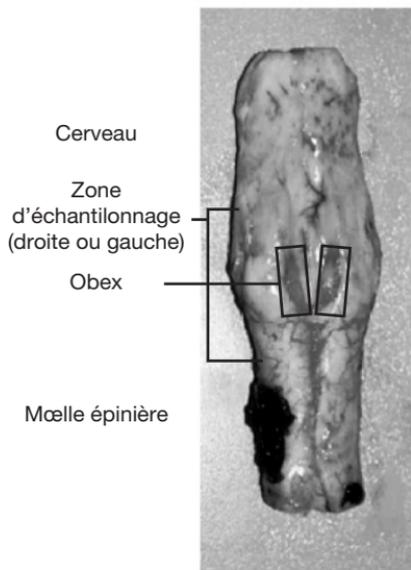
### 4 - MODE OPÉRATOIRE

### 5 - PRÉCAUTIONS/CONSEILS

### 6 - CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

## 1 - INFORMATION GÉNÉRALE

Les tests de dépistage des EST Bio-Rad sont réalisés sur un échantillon de  $350 \pm 40$  mg de système nerveux central (SNC). La région anatomique la plus favorable pour la détection de la PrP<sup>sc</sup> chez les animaux infectés est le tronc cérébral, plus précisément dans la région du nerf vague, dans la région de l'obex. Cette région du tronc cérébral est celle où la PrP<sup>sc</sup> est la plus concentrée.



*Coupe transversale, au niveau de l'obex, du tronc cérébral permettant d'identifier les régions cibles pour le diagnostic de l'ESB par histopathologie et immunohistochimie (noyau du tractus solitaire [1] et noyau du tractus trijumeau V [2]) et tremblante (noyau dorsal du nerf vague [3])*

(Source : OIE - Manuel des tests de diagnostic et des vaccins pour les animaux terrestres)

### 1-1 Collecte de l'échantillon à l'abattoir

Le tronc cérébral est facilement et rapidement prélevé avec un outil approprié ou une cuillère de prélèvement, via le foramen occipital, sans ouvrir la cavité crânienne.



Prélèvement de l'échantillon avec la cuillère de prélèvement Bio-Rad

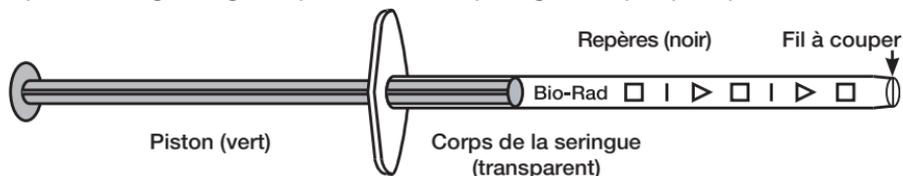
## 1-2 Procédure de prélèvement au laboratoire

L'échantillon complet de tronc cérébral doit être envoyé au laboratoire de dépistage en s'assurant que les mesures de sécurité recommandées par les autorités réglementaires nationales sont respectées. Au laboratoire, la quantité de matière cérébrale nécessaire est découpée à partir de la région de l'obex (à l'aide d'un scalpel, ...) ou collectée à l'aide de la seringue de prélèvement Bio-Rad (Réf : 3551175). La seringue de prélèvement permet d'extraire la quantité d'échantillon requise dans la zone appropriée rapidement et de façon sûre, en évitant tout risque de blessures.

La partie suivante décrit la procédure à suivre pour collecter efficacement l'échantillon dans la région de l'obex en utilisant la seringue de prélèvement Bio-Rad et sans détériorer le tissu.

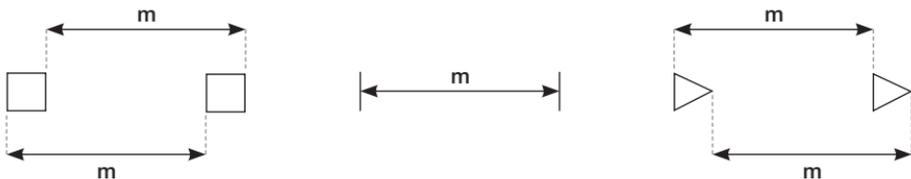
## 2 - SERINGUE DE PRÉLÈVEMENT Bio-Rad

La seringue de prélèvement Bio-Rad est constituée d'un piston vert et d'un corps transparent. Le corps de la seringue est gradué par une série de repères géométriques (□ ▷ |)



## 3 - MASSE D'ÉCHANTILLON REQUISE POUR LE TEST

La masse de l'échantillon doit occuper l'espace existant entre deux repères identiques, ce qui correspond à une masse (m) de 350 +/- 40 mg.



## 4 - MODE OPÉRATOIRE

- Prendre la seringue de prélèvement et tirer le piston vert sur approximativement 1 cm à partir de sa position initiale puis le ramener à sa position initiale.
- Tenir fermement le tronc cérébral dans une main en utilisant un emballage à usage unique (sac plastique, gant, etc.) pour éviter toute possibilité de contamination entre les échantillons. L'extrémité du tronc cérébral doit rester accessible. Si le tronc cérébral a une portion de moëlle épinière trop longue, il pourra être nécessaire de le couper. L'opérateur devra avoir reçu une formation appropriée pour localiser correctement la zone de prélèvement.
- De l'autre main positionner l'ouverture de la seringue de prélèvement à l'extrémité gauche ou droite du tronc cérébral.

**Note:** L'autre moitié de la région de l'obex doit rester intacte et disponible après le prélèvement de l'échantillon pour les tests de confirmation.



- Insérer le corps de la seringue progressivement dans le tronc cérébral tout en maintenant le piston vert immobile.

*Note: En collectant l'échantillon dans la région de l'obex, vérifier que le corps de la seringue reste positionné dans le canal sélectionné du tronc cérébral.*



- Arrêter ce mouvement lorsque l'extrémité de la seringue a atteint la limite supérieure de la zone de prélèvement.
- Découper l'échantillon du reste du tronc cérébral en faisant tourner le corps de la seringue sur un tour complet.
- Retirer délicatement la seringue de prélèvement du tronc cérébral en faisant attention à ne pas détériorer les tissus avoisinants. Le reste du tronc cérébral peut ensuite être replacé dans le conteneur d'origine de l'échantillon.
- S'assurer qu'il n'y a pas de bulles d'air dans l'échantillon collecté. Si besoin, compresser l'échantillon en bouchant l'extrémité de la seringue et en poussant le piston vert jusqu'à ce que l'air soit éliminé. Dans le même temps, s'assurer que les tissus à l'extrémité de la seringue soient retenus.
- Tout en maintenant le corps de la seringue fixe, déplacer le piston vert jusqu'au repère le plus proche.
- S'assurer que l'échantillon couvre au moins une zone du tube correspondant à «m», comme décrit dans le paragraphe précédent de ce document (masse de l'échantillon requise pour le test).
- Prendre un tube de broyage et retirer son bouchon. Repousser délicatement le piston vert de la seringue jusqu'au repère identique suivant afin de s'assurer que la masse correcte de tissu («m») soit déposée dans le tube de broyage. Notez que vous devez déplacer le piston jusqu'au repère identique suivant comme indiqué dans le paragraphe «masse de l'échantillon requise pour le test».
- Détacher l'échantillon en appuyant l'extrémité de la seringue de prélèvement contre la paroi intérieure du tube de broyage.

- Les échantillons de très mauvaise qualité devront être soit disséqués, ou dans le cas d'une autolyse avancée, prélevés à la pipette.
- La partie inutilisée de l'échantillon peut être conservée en plaçant la seringue dans le conteneur d'origine avec le tronc cérébral restant.

## 5 - PRÉCAUTIONS/CONSEILS

Comme pour tous les autres systèmes de pipetage, Bio-Rad recommande que les opérateurs utilisant la seringue de prélèvement soient contrôlés périodiquement, sur un nombre d'échantillons statistiquement représentatif, pour s'assurer que la masse des échantillons reste dans l'intervalle requis.

Les seringues de prélèvement sont à usage unique et doivent être détruites pour éviter toute contamination croisée.

L'échantillon doit être manipulé avec toutes les précautions nécessaires afin de s'assurer que tout risque de contamination pour les opérateurs soit minimisé.

Les seringues usagées doivent être détruites après avoir été décontaminées (Voir "Consignes d'hygiène et de sécurité").

Si l'échantillon ne remplit pas entièrement le corps de la seringue en dépit du respect de la procédure, il est recommandé de peser l'échantillon.

## 6 - CONSIGNES D'HYGIÈNE ET DE SÉCURITÉ

Les conditions d'hygiène et de sécurité ainsi que les bonnes pratiques de laboratoire devront être en accord avec la réglementation nationale en vigueur.

La seringue de prélèvement est exclusivement destinée au diagnostic "*in vitro*".

Il est recommandé de porter des gants jetables lors de la manipulation des réactifs et des échantillons et de se laver les mains immédiatement après leur manipulation.

Tout équipement entré en contact direct avec les échantillons doit être considéré comme ayant été contaminé.

Les surfaces contaminées doivent être nettoyées avec une solution d'hypochlorite de sodium à 20 000 ppm. Dans le cas où le liquide de contamination est un acide, les surfaces contaminées doivent préalablement être neutralisées avec de l'hydroxyde de sodium avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Les surfaces doivent être rincées à l'eau distillée, séchées à l'éthanol puis essuyées à l'aide d'un papier absorbant. Le matériel utilisé pour le nettoyage doit être jeté dans un conteneur spécifique pour les déchets contaminés.

Les échantillons, l'équipement et les produits contaminés doivent être éliminés après une décontamination selon l'une des méthodes suivantes:

- Par trempage dans une solution 1 M d'hydroxyde de sodium (concentration finale) durant 1 h dans une pièce à température (18-30 °C).
- Par trempage dans une solution d'hypochlorite de sodium à 20 000 ppm durant 1 h dans une pièce à température (18-30 °C).
- Par autoclavage à une température d'au moins 134°C pour une période minimum de 18 min, à une pression de 3 bars.
- **Note: ne jamais autoclaver les solutions contenant de l'eau de javel.**

Toutes les opérations impliquées dans les tests de dépistage des Encéphalopathies Spongiformes Transmissibles (EST) sont soumises aux directives de sécurité nationales et doivent être réalisées dans un laboratoire isolé avec accès contrôlé et limité réservé exclusivement à cette activité. Une blouse ou bleu de laboratoire, des sur chaussures, des gants

(deux paires) et un masque à visière ou un simple masque avec des lunettes de sécurité sont requis pour assurer la sécurité de l'opérateur.

Les opérateurs doivent recevoir une formation spécifique portant sur les risques liés aux agents EST ou prions ainsi que sur les méthodes validées de décontamination pour les agents non conventionnels. Les mesures de sécurité biologique doivent être en accord avec les directives des autorités de régulation du pays concerné.

- |                         |  |
|-------------------------|--|
| <b>(BG)</b>             | • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.                     |
| <b>(CN)</b>             | • 本产品包含人/动物成分，请小心处理。   |
| <b>(CN) Traditional</b> | • 本产品包含人/动物成分，請小心處理。   |
| <b>(CZ)</b>             | • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.                                 |
| <b>(DE)</b>             | • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.                |
| <b>(DK)</b>             | • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.                       |
| <b>(EE)</b>             | • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitleda ettevaatlikult.                                  |
| <b>(EN)</b>             | • This product contains human or animal components. Handle with care.  |
| <b>(ES)</b>             | • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.                                      |
| <b>(FI)</b>             | • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimistä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.                           |
| <b>(FR)</b>             | • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec précaution.                      |
| <b>(GR)</b>             | • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.                                   |
| <b>(HR)</b>             | • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.  |
| <b>(HU)</b>             | • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.                              |
| <b>(IT)</b>             | • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.  |
| <b>(JP)</b>             | • 本製品にはヒトまたは動物由来の構成成分が含まれます。取り扱いにご注意下さい。   |
| <b>(KR)</b>             | • 본 제품은 사람 또는 동물유래의 성분이 포함되어 있습니다. 취급에 주의하시기 바랍니다.   |
| <b>(LT)</b>             | • Šiame produktė yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai dalij. Elgtis atsargiai.                        |
| <b>(MT)</b>             | • Dan il-prodott fiħ komponenti umani jew tal-annimali. Uża b'attenzjoni.  |
| <b>(NL)</b>             | • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.   |
| <b>(NO)</b>             | • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsiktighet.                       |
| <b>(PL)</b>             | • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie. |
| <b>(PT)</b>             | • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.                            |
| <b>(RO)</b>             | • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrați-l cu grijă.                               |
| <b>(SE)</b>             | • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.                      |
| <b>(SI)</b>             | • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.   |
| <b>(SK)</b>             | • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.                                   |



H226 - H314 - H317 - H334 - H412  
P210 - P261 - P280  
P305+P351+P338 - P302+P352  
P333+P313 - P273 - P501

**(BG)**  
**опасно**

Запалими течност и пари. Причинява тежки изгаряния на кожата и сериозно увреждане на очите. Може да причини алергична кожна реакция. Може да причини алергични или астматични симптоми или затруднения в дишането при вдишване. Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. Да се пази от топлина. Тютюнопушенето е забранено. Избягвайте вдишване на прах/пушек/газ/дим/изпарения/аерозоли. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице. ПРИ КОНТАКТ С ОЧИТЕ: Промийвайте внимателно с вода в продължение на няколко минути. Свалете контактните лещи, ако има такива и доколкото това е възможно. Продължавайте да промивате. ПРИ КОНТАКТ С КОЖАТА: Измийте обилно със сапун и вода. При поява на кожно дразнене или обрив на кожата: Потърсете медицински съвет/помощ. Да се избягва изпускане в околната среда. Изхвърлете съдържанието/контейнера в съответствие с местните/регионалните/националните/международните разпоредби.

**(CN)**  
**危险**

易燃液体和蒸气, 引起严重的皮肤灼伤和眼睛损伤, 可能引起皮肤过敏反应。吸入可能引起过敏或哮喘症状或呼吸困难。对水生生物有害并且有长期持续影响。  
远离热源/火花/明火/热表面。 - 禁止吸烟。 - 避免吸入粉尘/烟/气体/烟雾/蒸气/喷雾。 戴防护手套/穿防护服/戴防护眼罩/戴防护面具。 . 如进入眼睛: 用水小心冲洗几分钟。如戴隐形眼镜并可方便地取出, 取出隐形眼镜。继续冲洗。如皮肤沾染: 用大量肥皂和水清洗。 . 如发生皮肤刺激或皮疹: 求医/就诊。 . 避免释放到环境中。 . 按照本地/地区/国家/国际惯例处理内含物/容器。

**(CN) Traditional**  
**危險**

易燃液體和蒸氣, 引起嚴重的皮膚灼傷和眼睛損傷, 可能引起皮膚過敏性反應。吸入可能引起過敏或哮喘症狀或呼吸困難。對水生生物有害並且有長期持續影響。  
遠離熱源/火花/明火/熱表面。 - 禁止吸煙。 - 避免吸入粉塵/煙/氣體/煙霧/蒸氣/噴霧。 . 戴防護手套/穿防護服/戴防護眼罩/戴防護面具。 . 如進入眼睛: 用水小心沖洗幾分鐘。如戴隱形眼鏡並可方便地取出, 取出隱形眼鏡。繼續沖洗。如皮膚沾染: 用大量肥皂和水清洗。 . 如發生皮膚刺激或皮疹: 求醫/就診。 . 避免釋放放環境中。 . 按照本地/地區/國家/國際規例處理內含物/容器。

**(CZ)**  
**Nebezpečí**

Hořlavá kapalina a páry. Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí. Může vyvolat alergickou kožní reakci. Při vdechování může vyvolat příznaky alergie nebo astmatu nebo dýchací potíže. Skodlivý pro vodní organismy, s

délhodobými účinky.

Chraňte před teplem/jiskrami/otevřeným plamenem/horkými povrchy. Zákaz kouření. Zamezte vdechování prachu/dýmu/plynu/mlhy/par/aerosolů. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. PŘI ZASAŽENÍ OČI: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování. PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla. Při podráždění kůže nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření. Zabráňte uvolnění do životního prostředí. Obsah/nádobu likvidujte v souladu s místními/regionálními/národními/mezinárodními předpisy.

**(DE)**  
**Gefahr**

Flüssigkeit und Dampf entzündbar. Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen. Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung.  
Von Hitze/Funken/offener Flamme/heißen Oberflächen fernhalten. Nicht rauchen. Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minn lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen. BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden. Entsorgung des Inhalts/ des Behälters gemäß den örtlichen/ regionalen/ nationalen/ internationalen Vorschriften.

**(DK)**  
**Fare**

Brandfarlig væske og damp. Forårsager svære forbrændinger af huden og øjenskader. Kan forårsage allergisk hudreaktion. Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger.  
Holdes væk fra varme/gnistere/åben ild/varme overflader. Rygning forbudt. Undgå indånding af pulver/røg/gas/tåge/damp/spray. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjnebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse VED KONTAKT MED ØJNENE: Skift forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand. Ved irriteration eller udslæt: Søg lægehjælp. Undgå udladning til miljøet. Bortskaffelse af indholdet/ beholderen i henhold til de lokale/regionale/nationale/internationale forskrifter.

**(EE)**  
**Ettevaatust**

Tuleohtlik vedelik ja aur. Põhjustab rasket nahasõovitus ja silmakahjustusi. Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Sissehingamisel võib põhjustada allergia- või astma sümptomeid või hingamiskraskusi. Ohtlik veeorganismidele, pikaajaline toime.  
Hoida eemal soojusallikast/sädemetest/leekidest/kuumadest pindadest. Mitte suitsetada. Vältida tolm/suitsu/gaasi/udu/auru/pihustatud aine sissehingamist. Kanda kaitsekindaid/kaitserõivastusi/kaitsepeile/kaitsemaski. SILMA SATTUMISE KORRAL: loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldada kontaktläätsed, kui neid kasutadaks ja kui neid on kerge eemaldada. Loputada veidi kord. NAHALE SATTUMISE KORRAL: pesta rohke veega ja seebiga. Nahaärrituse või \_obe korral: pööruda arsti poole. Vältida

sattumist keskkonda. Sisu/konteineri käitus vastavuses kohalike/regionaalsete/rahvuslike/rahvusvaheliste nõuetega.

## (EN)

### Danger

Flammable liquid and vapour. Causes severe skin burns and eye damage. May cause an allergic skin reaction. May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled. Harmful to aquatic life with long lasting effects.

Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. No smoking. Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray. 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 ON SKIN: Wash with plenty of soap and water. If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention. Avoid release to the environment. Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

## (ES)

### Peligro

Líquidos y vapores inflamables. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves. Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación. Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos nocivos duraderos.

Mantener alejado de fuentes de calor/chispas/llama abierta/superficies calientes. No fumar. Evitar respirar el polvo/el humo/el gas/la niebla/los vapores/el aerosol. Llevar guantes que aislen del frío/gafas/máscara. EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando. EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes. En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico. Evitar su liberación al medio ambiente. Eliminar el contenido o el recipiente conforme a la reglamentación local/regional/nacional/internacional.

## (FI)

### Vaara

Syttyvä neste ja höyry. Voimakkaasti ihoa syövyttävää ja silmiä vaurioittavaa. Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Voi aiheuttaa hengittettyä allergia- tai astmaoireita tai hengitysvaikeuksia. Haitallista vesiliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia.

Suojaa lämmöltä/kipinöiltä/avotulelta/kuumilta pinnoilta. Tupakointi kielletty. Vältä pölyn/savun/kaasun/sumun/höyryn/suihkeen hengittämistä. Käytä suojakaasineitä/suojavaateista/silmien suojainta/kasvosuojainta. JOS KEMIKAALIA JOUTUU SILMIIN: Huuhto huolellisesti vedellä usean minuutin ajan. Poista piiloilnssit, \_edical voi tehdä helposti. Jatka huuhtomista. JOS KEMIKAALIA JOUTUU IHOILLE: Pese runsaalla vedellä ja saippualla. Jos ilmenee ihoärsytystä tai ihottumaa: Hakeudu lääkäriin. Vältettävä päästämistä ympäristöön. Säilytä säiliö(t) noudattaen paikallisia/alueellisia/kansallisia/kansainvälisiä määräyksiä.

## (FR)

### Danger

Liquide et vapeurs inflammables. Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. Peut provoquer une allergie cutanée. Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation. Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.

Tenir à l'écart de la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer. Éviter de respirer les

poussières/fumées/gaz/brouillards/vapeurs/aérosols. 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 DE CONTACT AVEC LA PEAU: laver abondamment à l'eau et au savon. En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin. Éviter le rejet dans l'environnement. Éliminer le contenu/récipient conformément à la réglementation locale/régionale/nationale/internationale.

## (GR)

### Κίνδυνος

Υγρό και ατμοί εύφλεκτα. Προκαλεί σοβαρά δερματικά εγκαύματα και οφθαλμικές βλάβες. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Μπορεί να προκαλέσει αλλεργία ή συμπτώματα άσθματος ή δύσπνοια σε περίπτωση εισπνοής. Επικίνδυνος για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις.

Μακριά από θερμότητα/σπινθήρες/γυμνές φλόγες/θερμές επιφάνειες. Μην καπνίζετε. Αποφεύγετε να αναπνέετε σκόνη/αναθυμιάσεις/αέρια/σταγονίδια/ατμούς/εκνεφώματα. 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 φρακοί επαφής, αφαιρέστε τους, εφόσον είναι εύκολο. Συνεχίστε να ξεπλένετε. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΕΠΑΦΗΣ ΜΕ ΤΟ ΔΕΡΜΑ: Πλύνετε με άφρονο νερό και σαπούνι. Εάν παρατηρηθεί ερεθισμός του δέρματος ή εμφανιστεί εξάνθημα: Συμβουλευθείτε/Επισκεφθείτε γιατρό. Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον. Απορρίψτε τα περιεχόμενα/δοχεία σύμφωνα με τους τοπικούς/εθνικούς/διεθνείς κανονισμούς.

## (HR)

### Opasnost

Zapaljiva tekućina i para. Uzrokuje teške opekline kože i ozljede oka. Može izazvati alergijsku reakciju na koži. Ako se udiše može izazvati simptome alergije ili astme ili poteškoće s disanjem. Štetno za vodeni okoliš s dugotrajnim učincima. Čuvati odvojeno od topline/iskre/otvoreno plamena/vrućih površina. – Ne pušiti. Izbjegavati udisanje prašine/dim/a/plina/magle/pare/aerosola. Nositi zaštitne rukavice/zaštitnu odjelegu/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. U SLUČAJU DODIRA S KOŽOM: oprati velikom količinom sapuna i vode. U slučaju nadražaja ili osipa na koži: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Izbjegavati ispuštanje u okoliš. Odložite sadržaje /spremnike u skladu s lokalnim/regionalnim/nacionalnim/međunarodnim odredbama.

## (HU)

### Veszély

Tűzveszélyes folyadék és gőz. Smerkiai nudegina odaj ir pažeidžia akis. Allergiás bőrrreakciói válthat ki. Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. Ártalmas a vízi élővilágra, hosszant tartó károsodást okoz. Hőtől/szikrától/nyílt lángtól/törő felületektől távol tartandó. Tilos a dohányzás. Kerülie a por/füst/gáz/köd/gőzök/permet belélegzését. 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. HA BŐRRE KERÜL: Lemosás bő

szappanos vízzel. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijuttatását. Az edény tartalmát / a tartályt a helyi/regionális/nemzeti/nemzetközi szabályozásoknak megfelelően kell hulladékként elhelyezni.

## (IT)

### Pericolo

Liquido e vapori infiammabili. Provoca gravi ustioni cutanee e gravi lesioni oculari. Può provocare una reazione allergica cutanea. Può provocare sintomi allergici o asmatici o difficoltà respiratorie se inalato. Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Tenere lontano da fonti di calore/scintille/fiamme libere/superfici riscaldate. Non fumare. Evitare di respirare la polvere/i fumi/i gas/la nebbia/i vapori/gli aerosol. 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 CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Non disperdere nell'ambiente. Smaltire il prodotto/recipiente in conformità con le disposizioni locali / regionali / nazionali / internazionali.

## (JP)

### 危険

引火性液体及び蒸気。重篤な皮膚の薬傷及び眼の損傷。アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ。吸入するとアレルギー性喘息の発症を誘発するおそれ。長期継続的影響によって水生生物に有害。

熱/火花/裸火/高温のもののような着火源から遠ざけること。-禁煙。-粉じん/煙/ガス/ミスト/蒸気/スプレーの吸入を避けること。-保護手袋/保護衣/保護眼鏡/顔保護面の着用。-眼に入った場合:水で数分間注意深く洗うこと。次にコンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後洗浄を続けること。皮膚に付着した場合は:多量の水と石けん(鹸)で洗うこと。-皮膚刺激又は発しん(疹)が生じた場合:医師の診断/手当てを受けること。-環境への放出を避けること。-現地/地域/国/国際規定に従い内容物/容器の露出。

## (KR)

### 위험

인화성 액체 및 증기. 피부에 심한 화상과 눈에 손상을 일으킬 알레르기성 피부 반응을 일으킬 수 있음. 흡입시 알레르기성 반응, 천식 또는 호흡 기관을 일으킬 수 있음. 장기적인 영향에 의해 수생생물에 유해함. 열·스파크·화염·고열로부터 멀리하십시오 - 금연. (분진·흡가스·미스트·증기·스프레이)의 흡입을 피하십시오. (보호장갑·보호의·보안면·안면보호구)를 착용하십시오. 눈에 물이면 몇 분간 물로 조심해서 씻으십시오. 가능하면 콘택트렌즈를 제거하십시오. 계속 씻으십시오. 피부에 물이면 다량의 비누와 물로 씻으십시오. 피부 자극성 또는 홍반이 나타나면 의학적인 조치 조언을 구하십시오. 환경으로 배출하지 마십시오. 현지/지역/국가/국제규정에 따라서 내용물/용기 노출.

## (LT)

### Pavojinga

Degūs skystis ir garai. Smarkiai nudegina odą ir pažeidžia akis. Gali sukelti alerginę odos reakciją. Įkvėpus gali sukelti alerginę reakciją, astmos simptomus arba apsinkeinti kvėpavimą. Kenksminga vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus.

Laikyti atokiau nuo šilumos šaltinių/žiežirbų/atviros liepsnos/ karštų paviršių. Nerūkyti. Stengtis neįkvėpti dulkių/dūmų/dujų/rūko/garo/aerozolio. Mūvėti apsaugines pirštines/dėvėti apsauginius drabužius/naudoti akių (veido) apsaugos priemonės. PATEKUS Į AKIS: Kelias mins atsargiai plauti

vandeniu. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. PATEKUS ANT ODOS: Nuplauti dideliu kiekiu muilo ir vandens. Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. Saugoti, kad nepatektų į aplinką. Turini/talpa išpilti (išmesti) - šalinti pagal vietines / regionines / nacionalines / tarptautines taisykles.

## (NL)

### Gevaar

Ontvlambare vloeistof en damp. Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen.

Verwijderd houden van warmte/vonken/open vuur/hete oppervlakken. Niet roken. Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal min; contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen. BIJ CONTACT MET DE HUID: met veel water en zeep wassen. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. Voorkom lozing in het milieu. De inhoud en de verpakking verwerken volgens de plaatselijke/regionale/nationale/internationale voorschriften.

## (NO)

### Fare

Brennbar væske og damp. Forårsaker alvorlige hudforbrenninger og øyeskader. Kan forårsake allergiske hudreaksjoner. Kan forårsake allergi, astmalignende symptomer eller pusteproblemer ved innånding. Skadelig for vannlevende organismer, langtidsvirkning

Holdes adskilt fra varme. Ikke røyk. Unngå innånding av støv/rokk/gass/spraytetåke/damp/aerosol. Bruk vernehansker/vermeklar/vernebriller/ansiktsskjerm. VED KONTAKT MED ØYENNE: Skyll forsiktig med vann i opptil flere minutter. Fjern evt. kontaktlinser såfremt dette er lett mulig. Fortsett skyllingen. VED HUDKONTAKT: Vask med store mengder vann og såpe. Ved hudirritasjon eller -utslett: Kontakt / tilkall lege. Unngå utslipp til miljøet. Innholdet / emballasjonen skal avhendes i henhold til de lokale / regionale / nasjonale / internasjonale forskrifter.

## (PL)

### Niebezpieczeństwo

Łatwopalna ciecz i pary. Powoduje poważne oparzenia skóry oraz uszkodzenia oczu. . Może powodować reakcje alergiczne skóry. Może powodować objawy alergii lub astmy lub trudności w oddychaniu w następstwie wdychania. Działa szkodliwie na organizmy wodne, powodując długotrwałe skutki.

Przechowywać z dala od źródeł ciepła/iskrenia/otwartego ognia/gorących powierzchni. Palenie zabronione. Unikać wdychania pyłu/dymu/gazu/mgły/par/rozpylonej cieczy. Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy. W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjać soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Nadal płukać. W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem. W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry lub wysypki: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza. Unikać uwolnienia do środowiska. Zawartość / pojemnik usunąć zgodnie z przepisami miejscowymi / regionalnymi / narodowymi / międzynarodowymi.

**(PT)****Perigo**

Líquido e vapor inflamáveis. Provoca queimaduras na pele e lesões oculares graves. Pode provocar uma reacção alérgica cutânea. Quando inalado, pode provocar sintomas de alergia ou de asma ou dificuldades respiratórias. Nocivo para os organismos aquáticos com efeitos duradouros.

Manter afastado do calor/da fumaça/da chama aberta/das superfícies quentes. Não fumar. Evitar respirar as poeiras/fumos/gases/névoas/vapores/aerossóis. 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. SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes. Em caso de irritação ou erupção cutânea: consulte um médico. Evitar a libertação para o ambiente. Eliminar o conteúdo/recipiente de acordo com a legislação local/regional/nacional/internacional.

**(RO)****Pericol**

Lichid și vapori inflamabili. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Poate provoca o reacție alergică a pielii. Poate provoca simptome de alergii sau astm sau dificultăți de respirație în caz de inhalare. Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung.

A se păstra departe de surse de căldură/scântei/flăcări deschise/suprafețe încinse. Fumatul interzis. Evitați să inspirați praful/fumul/gazul/ceața/vaporii/spray-ul. Purtați mănuși de protecție/imbrăcăminte de protecție/echipament de protecție a ochilor/ chipament de protecție a feței. ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII: clătiți cu atenție cu apă timp de mai multe min. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA: spălați cu multă apă și săpun. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: consultați medicul. Evitați dispersarea în mediu. Aruncați conținutul/containerul în acord cu regulamentele locale/regionale/naționale/internaționale.

**(SE)****Fara**

Brandfarlig vätska och ånga. Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. Kan orsaka allergisk hudreaktion. Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer.

Får inte utsättas för värme/gnistor/öppen låga/heta ytor. Rökning förbjuden. Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera min. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Undvik utsläpp till miljön. Innehållet / behållaren avfallshanteras enligt lokala / regionala / nationella / internationella föreskrifter.

**(S)****Nevarno**

Vnetljivo tekočina in hlapi. Povzroča hude opekline kože in poškodbe oči. Lahko povzroči alergijski odziv kože. Lahko povzroči simptome alergije ali astme ali težave z dihanjem pri vdihavanju. Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki.

Hraniti ločeno od vročine/isker/odprtega ognja/vročih površin. Kajenje prepovedano. Ne vdihavati prahu/dima/plina/meglice/hlapov/razpršila. 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 S KOŽO: umiti z veliko mila in vode. Če nastopi draženje kože ali se pojavi izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč/oskrbo. Preprečiti sproščanje v okolje. Vsebinsko/vsebnik odstranite v skladu z lokalnimi/regionalnimi/narodnimi/mednarodnimi predpisi.

**(SK)****Nebezpečnostvo**

Horľavá kvapalina a pary. Provoacă arsuri grave ale pielii și lezarea ochilor. Může vyvolať alergickou kožnou reakci. Při vdýchnutí může vyvolat alergiu alebo príznaky astmy, alebo dýchacie ťažkosti. Škodlivý pre vodné organizmy, s dlhodobými účinkami.

Uchovávať mimo dosahu tepla/iskier/otvoreného ohňa/horúcich povrchov. Nefajčite. Zabraňte vdychovaniu prachu/dymu/plynu/hmlu/pár/aerosólov. Noste ochranné rukavice/ochranný odev/ochranné okuliare/ochranu tváre. PO ZASIAHNUTÍ OČÍ: Niekolko minút ich opatrne vyplachujte vodou. Ak používate kontaktné šošovky a ak je to možné, odstráňte ich. Pokračujte vo vyplachovaní. PRI KONTAKTE S POKOŽKOU: Umyte veľkým množstvom vody a mydla. Ak sa prejaví podráždenie pokožky alebo sa vytvoria vyrážky: vyhľadajte lekársku pomoc/starostlivosť. Zabraňte uvoľneniu do životného prostredia. Zneškodnenie obsahu/obalu v súlade s miestnymi/oblastnými/národnými/medzinárodnými nariadeniami.

BIO-RAD est une marque déposée de Bio-Rad Laboratories, Inc.  
TESEE, PRECESS 24 and PRECESS 48 ont des marques déposées de Bio-Rad Europe,  
GmbH dans certaines juridictions.  
Toutes les marques utilisées dans le présent document sont la propriété de leurs  
propriétaires respectifs.

**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](http://www.bio-rad.com)

