LABORATORY · DIAGNOSTICS

Arbovirus ViraChip® Test Kit pour IgG

Mode d'emploi

CE

Immunoblot sur puce destiné à la détection qualitative d'anticorps **IgG** dirigés contre des antigènes spécifiques **d'arbovirus** des espèces suivantes : virus Zika, virus de la dengue et virus du chikungunya, dans le sérum humain.

Le Test Kit Arbovirus ViraChip®IgG est un immunoblot basé sur un dosage immunoenzymatique au format microarray permettant de détecter des anticorps dirigés contre trois arbovirus différents. À cette fin, des antigènes spécifiques purifiés du virus Zika, du virus de la dengue et du virus du chikungunya sont fixés à des emplacements définis sur de la nitrocellulose. Les antigènes spécifiques purifiés comprennent des protéines d'enveloppe et des protéines non structurales.

Le **Test Kit Arbovirus ViraChip®IgG** répond aux exigences des normes de qualité de la directive **98/79/CE**.

Principe du test

Au fond de chaque puits d'une plaque de microtitrage standard à 96 puits (MTP) se trouve une membrane de nitrocellulose sur laquelle des antigènes sont fixés sous forme de spots d'analyte (microarray). Pendant l'incubation du sérum, les anticorps spécifiques aux arbovirus présents dans le sérum du patient se lient aux antigènes fixés sur le microarray. Au cours de l'incubation avec le conjugué, celui-ci se lie au complexe antigène-anticorps. Après ajout de la solution de Chromogen/Substrate, la phosphatase alcaline liée à l'anticorps conjugué transforme le Chromogen/Substrate, colorant ainsi le complexe antigène-anticorps sur le microarray en violet à noir. Après l'incubation avec le sérum, l'incubation avec le conjugué et l'incubation avec le Chromogen/substrat, une étape de lavage est effectuée à chaque fois pour éliminer les anticorps et les réactifs non liés.

Chaque micropuce contient, outre les spots d'analyte, les spots de contrôle suivants : **contrôles de sérum**, **contrôles de conjugué, contrôles d'étalonnage** et un **contrôle négatif**. Les spots d'analyte servent à détecter les anticorps dirigés contre les antigènes spécifiques des arbovirus :

1. les antigènes du virus Zika marqués d'un « Z- » : **Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII***, **Z-NS1**
2. les antigènes du virus de la dengue **D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII***, **D-NS1,** identifiés par un « D- », et
3. l'antigène **C-E** du virus du chikungunya, marqué d'un « C- **».**

Ainsi, la méthode utilisant une puce à micro-réseau Arbovirus ViraChip®IgG permet de détecter en parallèle les anticorps IgG spécifiques de trois arbovirus.

Pour une identification sans ambiguïté, les puits sont codés par couleur : à cet effet, l'Arbovirus ViraChip®IgG est marqué d'un **cercle bleu plein** sur le bord du puits.

Référence : **V-ABCGOK**
Contenu du conditionnement : **1 MTP de 96 puits séparables individuellement**
Matériel d'échantillonnage : **10 µl de sérum**
Durée du test : **environ 130 minutes**

Contenu du kit

1 MTP à 96 puits	**Arbovirus ViraChip® Antigen Coated Wells** Puits sécables individuellement avec micro-réseaux ViraChip®, prêts à l'emploi	(réf. : V-ABCGAC)
12 ml	**ViraChip® ®Conjugate AP-Anti-Human anti-IgG humaine** Solution de conjugué anti-IgG humaine pour les tests ViraChip® (d'origine caprine), contenant de la phosphatase alcaline bovine, prête à l'emploi	(Référence : V-UVCGKI)
100 ml	**ViraChip®/ ViraStripe®/ ViraBlot®Diluant / Wash Buffer** Tampon de lavage concentré pour les tests ViraChip®, contenant des détergents et des sels pour empêcher les liaisons non spécifiques, concentré 10 fois	(Référence : V-UVNUWP)
12 ml	**ViraChip® Chromogen / Substrate Solution** Solution Chromogen / de substrat pour les tests ViraChip® ®, avec BCIP / NBT, prête à l'emploi	(Référence : V-UVCUCS)
50 ml	**ViraChip®Sample Buffer** Tampon d'échantillonnage pour les tests ViraChip®, contenant du lait en poudre, des détergents et des sels pour empêcher les liaisons non spécifiques, prêt à l'emploi	(Référence : V-UVCUPP)

Disponible en option

1 barre MTP à 8 puits	**Antigen Coated Wells pour Arbovirus ViraChip®(8)** Puits sécables individuellement avec micro-réseaux ViraChip®, prêts à l'emploi	(Référence : V-ABCGRT)
110 µl	**Arbovirus ViraChip®Positive Control IgG** Sérum de contrôle positif IgG, humain, prêt à l'emploi	(Référence : V-ABCGPK)
330 µl	**Arbovirus ViraChip® IgG, A, M – Negative Control** Sérum de contrôle négatif IgG, IgA, IgM, humain, prêt à l'emploi	(Référence : V-ABCPNK)

Matériel supplémentaire requis

1. **ViraChip®Software** pour la préparation, la réalisation et l'interprétation du test, à partir de la version 1.3.0-1960 (Référence : V-VCNUPR)
2. **Lecteur de codes-barres 2D** pour la lecture des codes DataMatrix
3. **Plaque de microtitrage** pour compléter les rangées entamées de la plaque de microtitrage dans le cadre de support (Référence : V-UVNMTP)
   avec 96 puits vides
4. **Agitateur orbital (750 tr/min)** pour le mélange des échantillons et des réactifs pendant le traitement
   ou **agitateur linéaire (20 Hz)**
5. **ViraChip®Scanner** pour la numérisation / la mesure des tests ViraChip® développés, à partir du ViraChip® (réf. : V-UVCSCA)
   ou **ViraChip®Reader** Scanner v1.0 ou ViraChip®Reader Rev.01 (réf. : V-UVCCAM)
6. En option : **ventilateur** pour un séchage plus rapide des plaques de microtitrage développées

Préparation des réactifs et des échantillons des patients

Avant utilisation, amener tous les réactifs et la plaque de microtitrage emballée à température ambiante (TA : 20-23 °C). Bien mélanger tous les réactifs avant utilisation.

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

Tampon de lavage Diluer **le tampon de lavage concentré** dans de l'eau distillée ou déionisée (H_2O) dans un rapport de **1:10**, par exemple : 100 ml **de solution prête à l'emploi :** concentré de tampon de lavage + 900 ml $_{d'}H_2O$

Tampon d'échantillonnage : Prêt à l'emploi

Solution de conjugué : Prête à l'emploi

Solution Chromogen / solution de substrat : Prête à l'emploi

Puits de la plaque de microtitrage : Retirer avec précaution la plaque de microtitrage (MTP) de son emballage et placer le nombre nécessaire de puits dans un support de plaque de microtitrage vide (Préparation et réalisation du test, point 3). Utiliser les puits immédiatement après les avoir sortis de leur emballage. Remettre immédiatement les puits non utilisés dans leur emballage d'origine, le refermer hermétiquement et le conserver entre 2 et 8 °C.

Échantillons des patients : Les échantillons des patients sont mis en œuvre à une dilution **de 1:76**, par exemple **10 µl d'échantillon du patient** + **750 µl de tampon d'échantillon**. Lors du traitement, 100 µl de l'échantillon dilué sont nécessaires.

Contrôles : Si nécessaire, les sérums de contrôle positif et négatif sont utilisés à une dilution **de 1:16**, par exemple : **10 µl de sérum de contrôle** + **150 µl de tampon d'échantillon**. Lors du traitement, 100 µl du contrôle dilué sont utilisés.

Structure des micro-puces Arbovirus ViraChip®IgG[pour arbovirus]

Antigènes :
Chaque antigène spécifique du virus Zika (**Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII*** et **Z-NS1**), chaque antigène spécifique du virus de la dengue (**D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII*** et **D-NS1**) ainsi que l'antigène spécifique du virus du chikungunya (**C-E**) est déposé sous forme de spot individuel. Chaque spot correspond à une bande du Western blot / immunoblot.

Contrôles :
Chaque puits[du] ViraChip®contient les contrôles intégrés suivants :
deux contrôles de sérum (sc), un contrôle négatif (nc), deux contrôles de conjugué IgG (ccG), deux contrôles de conjugué IgM (ccM) et six contrôles d'étalonnage (cal).

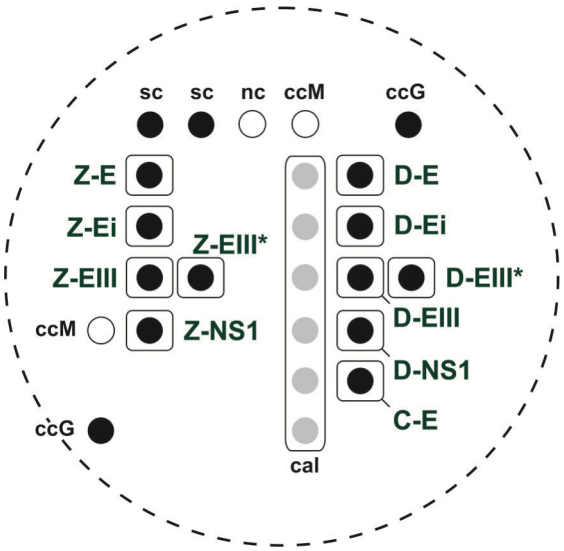

Figure 1 : Image d'une cavité de la plaque de microtitrage avec le micro-réseau[ViraChip®] IgG pour Arbovirus (agrandie). Disposition des spots pour les antigènes et des spots pour les contrôles intégrés.

Nomenclature et description des antigènes d'arbovirus d'après la littérature

Arbovirus	Nomenclature :	Antigène :	Remarques :
Virus Zika	**Z-E**	**Enveloppe**	La protéine E du virus Zika constitue la majeure partie de la surface du virion et intervient dans les processus de réplication, tels que la liaison aux cellules hôtes et la fusion membranaire (10,8,23).
	Z-Ei	**Enveloppe**	Fragment interne de la protéine E du virus Zika.
	Z-EIII	**Envelope III**	Région de la protéine E du virus Zika.
	Z-EIII*	**Enveloppe III***	Région modifiée de la protéine E du virus Zika.
	Z-NS1	**Protéine non structurale**	La NS1 est une protéine de grande taille qui joue divers rôles dans l'évasion immunitaire, la pathogenèse et la réplication virale du virus Zika (3,13).

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

Arbovirus	Nomenclature :	Antigène :	Remarques :
Virus de la dengue	**D-E**	**Enveloppe**	La protéine E du virus de la dengue constitue la majeure partie de la surface du virion et intervient dans des processus liés à la réplication, tels que la liaison aux cellules hôtes et la fusion membranaire (19,17).
	D-Ei	**Enveloppe**	Fragment interne de la protéine E du virus de la dengue.
	D-EIII	**Envelope III**	Région de la protéine E du virus de la dengue.
	D-EIII*	**Enveloppe III***	Variante de la protéine E du virus de la dengue.
	D-NS1	**Protéine non structurale**	La NS1 est une grande protéine qui joue divers rôles dans l'évasion immunitaire, la pathogenèse et la réplication virale du virus de la dengue (22).
Virus du chikungunya	**C-E**	**Enveloppe**	La protéine E est une protéine de fusion qui intervient dans la fusion membranaire au cours de l'infection par le virus du chikungunya (6).

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

Préparation et réalisation du test

En cas de traitement automatisé, les temps d'incubation, les volumes et l'ordre des différentes étapes peuvent différer de la procédure décrite ci-dessous. Des instructions détaillées étape par étape pour la solution d'automatisation utilisée, ainsi qu'un guide d'utilisation du ViraChip®Software· sont fournis par Viramed Biotech AG lors de la mise en place des appareils et de la formation. Voir également la section « Remarques concernant les appareils et les logiciels ».

1. **Sélection**
   Sélection des tests et saisie des données relatives aux échantillons dans le plan de répartition du ViraChip®Software.

2. **Chargement**
   Lecture des codes-barres 2D figurant sur les étiquettes du Test Kit et de la plaque de microtitrage, afin de transférer les numéros de lot et les facteurs spécifiques au lot (lot specific factors).

3. **Traitement**
   Effectuer toutes les étapes de traitement à température ambiante (RT).

3.1 Préparation
- Placer dans le cadre de support le nombre de puits défini conformément à la configuration.
- Remplir les emplacements vides d'une rangée de la plaque de microtitrage dans le cadre de fixation avec des alvéoles vides. Les rangées sont numérotées de 1 à 12 sur la plaque de microtitrage.

Veiller à ce qu'aucune particule de plastique ne tombe dans les puits lors de la rupture des barrettes.

3.2 Pré-incubation
- Ajouter 300 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi dans chaque puits.
- Incuber pendant 5 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Aspirer le liquide.

3.3 Incubation du sérum
- Conformément au plan de répartition, ajouter 100 µl d'échantillon de patient dilué ou 100 µl de sérum témoin dilué dans la cavité correspondante.
- Incuber pendant 30 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Aspirer le liquide .

3.4 3 lavages
- Ajouter 300 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi « » ( ) dans chaque puits.
- Incuber pendant 5 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Aspirer le liquide.

3.5 Incubation avec le conjugué
- Ajouter 100 µl de solution de conjugué dans chaque puits.
- Incuber pendant 30 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Aspirer le liquide.

3,6 Laver 3 fois
- Ajouter 300 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi dans chaque puits.
- Incuber pendant 5 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Aspirer le liquide.

3.7 1 lavage
- Ajouter 300 µl d'eau distillée ou déionisée dans chaque puits.
- Incuber pendant 1 minute à température ambiante.
- Aspirer le liquide.

3.8 Incubation du substrat
- Ajouter 100 µl de solution de Chromogen / substrat dans chaque puits.
- Incuber pendant 15 minutes à température ambiante sur l'agitateur.
- Arrêt : aspirer le liquide.

Régler les aiguilles d'aspiration ou utiliser les pipettes de manière à ne pas endommager le fond des puits.

Les fonds des puits doivent être entièrement recouverts de liquide pendant les étapes d'incubation.

Pendant les étapes d'incubation et de lavage, utiliser un agitateur orbital réglable à une fréquence d'environ 750 tr/min ou un agitateur linéaire réglable à une fréquence d'environ 20 Hz.

3.9 3 lavages
- Ajouter 300 µl d'eau distillée ou déionisée dans chaque puits.
- Pas d'incubation intermédiaire.
- Aspirer le liquide.

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

3.10 Séchage des puits

Laisser sécher pendant 20 minutes à une humidité relative maximale de 60 % sous un flux d'air continu.

Si l'humidité de l'air est plus élevée, le temps de séchage peut être prolongé. Il est également possible de laisser sécher pendant 12 heures à température ambiante, à l'abri de la lumière.

4. Numérisation

Mesurer les micro-puces ViraChip®à l'aide du ViraChip®Scanner ou du ViraChip®Reader.

Les mesures des micro-puces[ViraChip®]doivent être effectuées dans les 24 heures suivant le traitement (conserver la plaque de microtitrage à l'abri de la lumière). Veuillez vous reporter au manuel de l'appareil pour connaître la procédure exacte.

5. Analyse

5.1 Vérifier l'affectation des spots d'antigènes et des spots de contrôle (validation technique)

En fonction de sa position, chaque spot est automatiquement attribué par la [ViraChip®]Software au spot d'antigène ou au spot de contrôle correspondant.
L'attribution automatique doit être vérifiée visuellement à l'aide du modèle présenté à la figure 1. Les attributions qui ne correspondent pas au modèle représenté doivent être marquées comme « non valides » dans le champ « QC ». L'échantillon concerné doit être réanalysé.

5.2 Contrôle de validité

Le contrôle de validité est effectué automatiquement par la ViraChip®Software.

Une puce à ADN[ViraChip®]est valide si les spots de contrôle suivants répondent aux critères enregistrés dans la ViraChip®Software :
- **Contrôles sériques** (sc) supérieurs à la valeur seuil
- **Contrôles de conjugués IgG** (ccG) supérieurs à la valeur seuil
  Les contrôles de conjugués IgG doivent présenter une réactivité plus forte que les contrôles des autres classes de conjugués.
- **Contrôles de calibrage** (cal) supérieurs à la valeur seuil
- **Contrôle négatif** (nc) inférieur à la valeur seuil

Si l'un des critères mentionnés n'est pas rempli, le microarray ViraChip® est classé comme « non valide ». Les microarrays ViraChip® non valides ne doivent pas être analysés et doivent être refaits.

5.3 Évaluation des microarrays ViraChip®

L'évaluation des échantillons des patients est effectuée automatiquement par la ViraChip®Software selon les critères d'évaluation définis ci-dessous :

Les unités ViraChip® de chaque spot sont calculées par la ViraChip®Software en tenant compte des facteurs spécifiques au lot par rapport aux contrôles d'étalonnage.

Critères d'évaluation

Unités ViraChip®des spots	Résultat	Évaluation
des antigènes **du virus Zika** : de la tache **Z-NS1** **≥ 100 unités ViraChip®** ou au moins **deux** spots d'antigènes **≥ 100 unités[ViraChip®]**parmi : Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII*	s **positifs** pour **le virus Zika**	Présence d'anticorps IgG spécifiques contre **le virus Zika**. Une infection par le **virus Zika** est **probable**.
Pas de tache ≥ 100 unités ViraChip® ou toutes les autres combinaisons	s **négatives** pour **le virus Zika**	Aucun anticorps IgG spécifique contre les antigènes **du virus Zika** n'est détectable. En cas de suspicion d'infection récente, effectuer en plus un dosage des anticorps IgM, puis analyser un deuxième échantillon après 2 à 3 semaines pour détecter les anticorps IgM et IgG.
des antigènes **du virus de la dengue** : le spot **D-NS1** **≥ 100 unités ViraChip®** ou au moins **deux** taches d'antigène **≥ 100 unités ViraChip®**issues de : D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII*	s **positifs** pour **le virus de la dengue**	Présence d'anticorps IgG spécifiques contre l'antigène **du virus de la dengue**. Une infection par le **virus de la dengue** est **probable.**
Aucune tache ≥ 100 unités ViraChip® ou toutes les autres combinaisons	**Négatif** pour **le virus de la dengue**	Aucun anticorps IgG spécifique contre les antigènes **du virus de la dengue** n'est détectable. En cas de suspicion d'infection récente, effectuer en plus un dosage des anticorps IgM, puis analyser un deuxième échantillon après 2 à 3 semaines pour détecter les anticorps IgM et IgG.

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

de l'antigène **du virus du chikungunya** : le **C-E** Spot **≥ 100 unités ViraChip®**	e **positif** pour **le virus du chikungunya**	Présence d'anticorps IgG spécifiques dirigés contre l'antigène d'enveloppe **du virus du chikungunya**. Une infection par le **virus du chikungunya** est **probable.**
le **C-E** Spot **< 100 unités ViraChip®**	**Résultat négatif** pour **le virus du chikungunya**	Aucun anticorps IgG spécifique dirigé contre l'antigène d'enveloppe **du virus du chikungunya** n'est détectable. En cas de suspicion d'infection récente, effectuer en complément un dosage des anticorps IgM, puis analyser un deuxième échantillon après 2 à 3 semaines pour détecter les anticorps IgM et IgG.

Importance diagnostique des anticorps anti-arbovirus

1. Généralités
Les virus Zika, de la dengue et du chikungunya sont des arbovirus pathogènes pour l'homme, principalement transmis par les moustiques (genre Aedes). Les virus Zika et de la dengue appartiennent à la famille des flavivirus (genre Flavivirus), tandis que le virus du chikungunya appartient à la famille des togavirus (genre Alphavirus) (9). Tant leur proximité génétique que le chevauchement de leur aire de répartition compliquent la différenciation sérologique.
Un diagnostic fiable est en outre compliqué par le fait que de nombreux flavivirus (tels que les virus Zika et de la dengue) provoquent des symptômes similaires, voire aucun symptôme, et que les anticorps des patients infectés par le virus Zika peuvent présenter une réaction croisée avec d'autres flavivirus (30). Par ailleurs, les infections par le virus Zika ou le virus chikungunya pendant la grossesse sont notamment soupçonnées de présenter un risque pour le fœtus (26,27,4).

2. Anticorps anti-virus Zika
a) Les anticorps IgG sont produits quelques jours après les anticorps IgM et peuvent être détectés plusieurs mois, voire plusieurs années après l'infection (5), voire persister toute la vie (18).
b) Les anticorps IgM apparaissent généralement quelques jours après le début de la maladie (14,5) et peuvent être détectés jusqu'à trois mois. La plupart du temps, les anticorps IgM disparaissent dès 4 à 8 semaines après l'apparition des symptômes (18) ; toutefois, chez certains patients, des anticorps IgM ont pu être détectés plus longtemps (5).
En règle générale, les anticorps IgM sont détectables en cas d'infection récente (18) et peuvent donc être interprétés comme un signe d'infection aiguë.

3. Anticorps anti-virus de la dengue
a) Les anticorps IgG apparaissent généralement environ une semaine après le début de la maladie lors d'une infection primaire, atteignent leur pic quelques semaines après l'infection, diminuent ensuite légèrement et persistent pendant des décennies, voire plus (28).
Une infection secondaire par le virus de la dengue se caractérise par l'apparition d'anticorps IgG anti-dengue à titre élevé avant ou en même temps que les anticorps IgM (20).
b) Lors d'une primo-infection, **les anticorps IgM** apparaissent dès 3 à 5 jours après le début de la maladie. Ils atteignent leur pic environ 2 semaines après l'infection, puis diminuent (20).
La cinétique de formation des anticorps IgM est similaire lors des infections primaires et secondaires par le virus de la dengue (20). Cependant, les titres d'anticorps IgM sont généralement nettement plus faibles lors des infections secondaires (20) et peuvent même être totalement absents (11), ce qui peut entraîner des résultats faussement négatifs (18). En raison de leur proche parenté, le phénomène peut être similaire lors d'infections secondaires par des flavivirus tels que le virus Zika.

4. Anticorps anti-virus du chikungunya
a) Les anticorps IgG peuvent être détectés dès le septième jour de la maladie (18) et persistent pendant plusieurs mois (16). Une multiplication au moins par quatre des anticorps IgG dans deux échantillons consécutifs prélevés chez le patient est considérée comme probante d'une infection (18).
b) Les anticorps IgM peuvent généralement être détectés dans le sérum du patient dès la phase aiguë de la maladie (16), au plus tard 5 à 7 jours après le début de la maladie (18, 15). Les titres d'anticorps IgM atteignent leur niveau maximal 3 à 5 semaines après l'apparition de la maladie et persistent pendant environ 2 mois (29). La détection d'anticorps IgM à elle seule est considérée comme indicative d'une infection aiguë, mais doit être confirmée par un suivi (18).

5. Pour tous les arbovirus, la protéine d'enveloppe E (E-protéine) constitue une cible principale de la réponse immunitaire des anticorps neutralisants. Des études récentes montrent que la protéine E du virus Zika présente une forte similitude avec celle du virus de la dengue et du virus du Nil occidental (1,12). Pour le virus du chikungunya en particulier, la protéine E est considérée comme hautement spécifique (6).
6. Des réactivités croisées entre les antigènes viraux respectifs ont été décrites lors d'infections par les virus Zika, de la dengue, du Nil occidental, de la fièvre jaune, de l'encéphalite japonaise, de la MEVE et du chikungunya (31,12,7). Dans les régions où deux ou plusieurs arbovirus sont endémiques, les infections multiples et séquentielles compliquent le diagnostic différentiel en raison de la présence d'anticorps spécifiques aux arbovirus déjà existants (7,30).
7. Après une primo-infection, l'évolution clinique d'une seconde infection par un virus apparenté sur le plan antigénique peut être aggravée en raison de la présence d'anticorps interspécifiques et à réaction croisée (1,2,21).
8. Des stimulations polyclonales dues à d'autres infections virales, telles que l'EBV, peuvent entraîner des réactions positives aux anticorps dans le Test Kit [ViraChip®]IgG 2.0 [pour] Arbovirus ViraChip.
9. Lors de l'évaluation et de l'interprétation du test, il convient de tenir compte d'une exposition antérieure du patient aux arbovirus lors de voyages ou de séjours prolongés dans des zones d'endémie.

Caractéristiques techniques

Sensibilité
Des échantillons de sérum présentant une suspicion clinique d'infection par le virus Zika, le virus de la dengue et/ou le virus du chikungunya ont été analysés à l'aide du [kit de test] Arbovirus [ViraChip®]afin de détecter la présence d'anticorps IgG dirigés contre le virus Zika, le virus de la dengue et le virus du chikungunya. Les résultats sont présentés dans les tableaux 1a, 1b et 1c.

Échantillons de sérum	**Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Zika Résultat**			
	Total	Positif	Négatif	% de sensibilité
Virus Zika défini cliniquement*	25	25	0	100 % (25/25)

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

Tableau 1a : Échantillons de sérum présentant une infection par le virus Zika définie cliniquement. Résultats du test Arbovirus [ViraChip®]IgG – virus Zika.

Échantillons de sérum	Arbovirus ViraChip® : résultats IgG – virus de la dengue			
	Total	Positif	Négatif	% de sensibilité
Virus de la dengue (définition clinique)*	12	11	1	92 % (11/12)

Tableau 1b : Échantillons de sérum présentant une infection par le virus de la dengue définie cliniquement. Résultats du test Arbovirus [ViraChip®]IgG – virus de la dengue.

Échantillons de sérum	Arbovirus ViraChip® : résultats IgG – virus du chikungunya			
	Total	Positif	Négatif	% de sensibilité
Virus du chikungunya défini cliniquement*	20	20	0	100 % (20/20)

Tableau 1c : Échantillons de sérum présentant une infection par le virus du chikungunya définie cliniquement. Résultats [du]test Arbovirus [ViraChip®]IgG – virus du chikungunya.

*) Aucune information n'est disponible concernant les infections multiples par le même arbovirus ou par d'autres arbovirus.

Spécificité

Afin de déterminer la spécificité analytique, 84 échantillons provenant de donneurs de sang allemands (région non endémique) et 14 échantillons provenant de femmes enceintes allemandes (région non endémique) ont été analysés à l'aide du test Arbovirus [ViraChip®]IgG afin de détecter la présence d'anticorps IgG dirigés contre le virus Zika, le virus de la dengue et le virus du chikungunya. Les résultats sont présentés dans les tableaux 2a, 2b et 2c.

Échantillons de sérum	Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Zika Résultat				
	Total	Négatif	Positif	% de positifs	% de spécificité
Donneurs de sang (non endémiques)	84	81	3	4 %	96 % (81/84)
Femmes enceintes (régions non endémiques)	14	14	0	0 %	100 % (14/14)
Total	98	95	3	3 %	97 % (95/98)

Tableau 2a : Spécificité chez les donneurs de sang allemands (région non endémique) et les femmes enceintes allemandes (région non endémique). Résultats du test Arbovirus [ViraChip®] –IgG – virus Zika pour les arbovirus.

Échantillons de sérum	Arbovirus ViraChip® IgG – Résultat pour le virus de la dengue				
	Total	Négatif	Positif	% de positifs	% de spécificité
Donneurs de sang (non endémiques)	84	81	3	4 %	96 % (81/84)
Femmes enceintes (régions non endémiques)	14	13	1	7 %	93 % (13/14)
Total	98	94	4	4 %	96 % (94/98)

Tableau 2b : Spécificité chez les donneurs de sang allemands (région non endémique) et les femmes enceintes allemandes (région non endémique). Résultats du test Arbovirus [ViraChip®]– IgG – virus de la dengue.

Échantillons de sérum	Arbovirus ViraChip® IgG – Résultat pour le virus du chikungunya				
	Total	Négatif	Positif	% de positifs	% de spécificité
Donneurs de sang (non endémiques)	84	84	0	0 %	100 % (84/84)
Femmes enceintes (régions non endémiques)	14	13	1	7 %	93 % (13/14)
Total	98	97	1	1 %	99 % (97/98)

Tableau 2c : Spécificité chez les donneurs de sang allemands (région non endémique) et chez les femmes enceintes allemandes (région non endémique). Résultats [du]test Arbovirus [ViraChip®]IgG pour les arbovirus – virus du chikungunya.

Exigences applicables à l'utilisateur

1. Ce test ne doit être réalisé que dans un laboratoire spécialisé disposant de l'équipement de laboratoire approprié (par exemple, conforme aux « Bonnes pratiques de laboratoire », BPL) et, le cas échéant, des autorisations officielles nécessaires pour manipuler les échantillons à analyser.

2. Afin d'obtenir un résultat de test précis, il convient de respecter le mode d'emploi et les BPL.

3. Ce test ne doit être réalisé que par du personnel qualifié ayant reçu une formation sur la procédure de test.

Conservation et durée de conservation des réactifs

1. Micro-puces ViraChip®: conservées dans leur emballage d'origine, elles se conservent entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.

2. Tampon de lavage concentré, 10 fois : se conserve entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

3. Tampon de lavage prêt à l'emploi : se conserve environ 2 semaines entre 2 et 8 °C. En cas de conservation prolongée, le tampon prêt à l'emploi peut être divisé en aliquotes et congelé à -20 °C.
4. Tampon pour échantillons : se conserve entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.
5. Solution de conjugué : se conserve entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption.
6. Solution de Chromogen/substrat : se conserve entre 2 et 8 °C jusqu'à la date de péremption. À protéger de la lumière !
7. Après la première ouverture des réactifs et des composants du kit, la durée de conservation est généralement maintenue jusqu'à la date de péremption indiquée, à condition que le produit soit utilisé conformément aux « bonnes pratiques de laboratoire » et conservé dans son emballage d'origine dans le respect des conditions de stockage indiquées sur l'étiquette.

Précautions / Mesures de sécurité

1. Tous les composants sériques d'origine humaine ont été testés pour la présence d'anticorps anti-VHC, anti-VIH-1 et anti-VIH-2 ainsi que de l'antigène HBs, et se sont révélés négatifs. Néanmoins, tous les composants d'origine humaine du kit, ainsi que les échantillons des patients, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et utilisés en prenant les précautions qui s'imposent. Lors de manipulations de matières potentiellement dangereuses ou infectieuses, il convient de respecter les lois, règlements et prescriptions nationaux et internationaux applicables. Cela vaut également pour le stockage et l'élimination des produits chimiques et réactifs utilisés.
2. Les mesures de protection relatives à la manipulation de substances dangereuses et biologiques doivent être respectées conformément aux directives en vigueur dans chaque pays pour les laboratoires. Ces mesures comprennent notamment :
- Ne pas pipeter avec la bouche.
- Porter des gants jetables et des lunettes de protection / un masque facial.
- Ne pas manger, boire ni fumer sur le lieu de travail.

3. Éviter tout contact de la peau et des muqueuses avec la solution de Chromogen / de substrat. En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer immédiatement et abondamment à l'eau.
4. Les échantillons et tous les matériaux potentiellement contaminés, ainsi que les déchets liquides infectieux, doivent être décontaminés conformément aux directives de laboratoire généralement reconnues, par exemple par un autoclavage d'au moins 20 minutes à 121 °C. Pour l'élimination des déchets liquides, ceux-ci peuvent par exemple être mélangés à de l'hypochlorite de sodium dans un rapport volumique tel que le mélange final contienne 1 % d'hypochlorite de sodium. Laisser agir pendant 30 minutes pour une désinfection complète.
5. Les informations relatives aux dangers potentiels, aux mesures de premiers secours, aux mesures à prendre en cas de rejet accidentel de quantités importantes, à la manipulation et au stockage, à l'équipement de protection individuelle, aux consignes d'élimination ainsi qu'aux données toxicologiques sont consignées dans les fiches de données de sécurité.
6. Il faut éviter que de la poussière et d'autres impuretés ne pénètrent dans les cavités du MTP, car cela pourrait fausser les résultats.

Prélèvement, manipulation et conservation de l'échantillon du patient

1. Le **Test Kit Arbovirus ViraChip®IgG** doit être utilisé avec du sérum humain comme échantillon.
2. Le prélèvement doit être effectué par du personnel médical qualifié, conformément aux normes en vigueur, à partir de sang total (25).
3. Les échantillons ayant subi un prétraitement thermique, hémolytiques, ictériques ou lipémiques peuvent entraîner des résultats non valides.
4. Les échantillons ne doivent pas présenter de contamination microbienne.
5. En règle générale, les échantillons non dilués peuvent être conservés jusqu'à 5 jours à une température comprise entre 2 et 8 °C
. Pour une conservation pouvant aller jusqu'à 24 mois, les échantillons doivent être congelés en aliquotes à une température d'au moins -20 °C.
6. Avant de commencer les essais, les échantillons doivent être ramenés à température ambiante. Après décongélation, mélanger délicatement les échantillons et, si nécessaire, éliminer les particules visibles par centrifugation.
7. Il convient d'éviter les cycles répétés de congélation et de décongélation des échantillons.

Limites de la méthode d'analyse

1. Un résultat positif du test sur l'échantillon d'un patient donné doit être considéré comme un symptôme. L'interprétation et l'évaluation des résultats du test ne doivent être effectuées que par du personnel médical qualifié, après analyse de toutes les données pertinentes (24).
2. Un résultat négatif n'exclut pas un contact avec l'agent pathogène ni une infection.
3. La détection d'anticorps spécifiques peut donner lieu à des résultats divergents selon les tests utilisés ou les fabricants, en raison des différences de sensibilité, de spécificité et de méthodes de test.
4. En cas d'immunosuppression, l'interprétation des résultats est limitée (24).
5. Les médicaments et l'administration d'immunoglobulines peuvent provoquer des réactions anticorps non spécifiques (24).
6. Les dispositifs de diagnostic *in vitro* ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption indiquée, car la fiabilité des résultats n'est alors plus garantie.
7. Le respect scrupuleux des instructions d'utilisation est essentiel pour obtenir des résultats de test précis. Une exécution insuffisante des étapes de lavage peut entraîner des résultats erronés.
8. La préparation d'échantillons groupés, dans lesquels plusieurs sérums sont analysés ensemble, n'est pas autorisée, car ce type de préparation peut nuire à la sensibilité et à la spécificité du test.

Remarques concernant les appareils et les logiciels

1. En cas d'exécution automatisée, il convient de programmer et d'utiliser les étapes de travail validées par Viramed Biotech AG pour le type de processeur concerné.
2. En cas d'utilisation de consommables spécifiques au processeur, les configurations correspondantes doivent être validées par Viramed Biotech AG conformément aux instructions du fabricant.
3. La configuration de l'appareil et du logiciel fournie par Viramed Biotech AG ne doit pas être modifiée. Toute modification peut entraîner des résultats erronés.
4. Seuls les logiciels spécifiques à l'appareil doivent être utilisés. Les modifications des fichiers de configuration ne peuvent être effectuées que par Viramed Biotech AG.
5. Seuls les systèmes homologués par Viramed Biotech AG peuvent être utilisés comme appareils de mesure.
6. L'analyse des microarrays ViraChip®s'effectue exclusivement à l'aide de la ViraChip®Software. Une analyse manuelle ou visuelle n'est pas possible.

Bibliographie

1. BARDINA, SV et al. : Enhancement of Zika virus pathogenesis by preexisting antiflavivirus immunity, Science, 2017

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

2. BECK, C et al. : « Flavivirus en Europe : schémas de circulation complexes et leurs conséquences pour le diagnostic et la lutte contre la maladie du Nil occidental », Int J Environ Res Public Health, 2013
3. CAMPOS, GS et al. : Épidémie de virus Zika, Bahia, Brésil, CDC Emerging Infectious Diseases, 2015
4. Centre national des maladies infectieuses du CDC : Syndrome congénital du virus Zika et autres malformations congénitales liées au virus Zika, mise à jour du 11 octobre 2022, https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/testing-follow-up/zika-syndrome-birth-defects.html, 2022
5. CHARREL, RN et al. : Revue de la littérature en vue du développement de tests diagnostiques pour l'infection par le virus Zika, Bulletin de l'Organisation mondiale de la santé, 2016
6. CHO, B et al. : Expression intermédiaire et évaluation des protéines d'enveloppe E1 et E2 du virus du chikungunya pour le sérodiagnostic de l'infection par le virus du chikungunya, Yonsei Med J, 2008
7. CRILL, WD & CHANG, GJJ : Localisation et caractérisation des épitopes à réaction croisée des glycoprotéines d'enveloppe des flavivirus, J Virol, 2004
8. DAI, L et al. : Structures de la protéine d'enveloppe du virus Zika et de son complexe avec un anticorps à large spectre protecteur contre les flavivirus, Cell Host & Microbe, 2016
9. DOBLER, G, & ASPÖCK, H : Les arbovirus transmis par les moustiques en tant qu'agents pathogènes responsables d'infections chez l'homme, Denisia, 2010
10. FAYE, O et al. : Évolution moléculaire du virus Zika lors de son émergence au XXe siècle, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2014
11. GIBBS, T & SMITH, DW : Définition de cas en laboratoire pour les flavivirus, ministère australien de la Santé, 2016
12. GUZMAN, MG et al. : « La dengue : une menace mondiale persistante », Nat Rev Microbiol, 2010
13. HANG, VT et al. : Précision diagnostique des tests ELISA NS1 et des tests rapides à flux latéral pour la dengue : sensibilité, spécificité et relation avec la virémie et les réponses anticorps, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2009
14. HAYES, E : Le virus Zika hors d'Afrique, CDC Emerging Infectious Diseases, 2009
15. JOHNSON, BW et al. : Diagnostic en laboratoire des infections par le virus du chikungunya et sources commerciales des tests de diagnostic, Journal of Infectious Diseases, 2016
16. KAM, YW et al. : Analyse longitudinale de la réponse immunitaire humaine à l'infection par le virus du chikungunya : implications pour le diagnostic sérologique et le développement d'un vaccin, Journal of Virology, 2012
17. KLEIN, DE et al. : Structure de la protéine d'enveloppe du virus de la dengue au stade avancé de la fusion, Journal of Virology, 2013
18. WELLINGHAUSEN, N et al. : MiQ 35b : Méthodes d'immunologie infectieuse – Partie II, ELSEVIER ; Urban & Fischer, 2016
19. MODIS, Y et al. : Épitopes de surface variables dans la structure cristalline de la glycoprotéine d'enveloppe du virus de la dengue de type 3, Journal of Virology, 2005
20. RAVULAPALLI, AR et al. : Protéine recombinante multi-épitopique pour la détection précoce des infections par la dengue, Clinical And Vaccine Immunology, 2006
21. RODRIGUEZ-MORALES, AJ et al. : La charge de morbidité arbovirale liée à la co-circulation et à la co-infection par la dengue, le chikungunya et le virus Zika dans les Amériques, Travel Medicine and Infectious Disease, 2016
22. SCATURRO, P et al. : La protéine non structurale 1 du virus de la dengue module la production de particules infectieuses par interaction avec les protéines structurales, PLoS Pathog, 2015
23. SIROHI, D et al. : Structure du virus Zika obtenue par cryo-microscopie électronique à une résolution de 38 Å, vol. 352, numéro, 2016
24. THOMAS, L. : Laboratoire et diagnostic, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
25. TUCK, MK et al. : Procédures opérationnelles standard pour le prélèvement de sérum et de plasma, J Proteome Res, 2009
26. VILLAMIL-GOMEZ, W et al. : Infection congénitale par le virus du chikungunya à Sincelejo, en Colombie : une série de cas, J Trop Pediatr, 2015
27. VILLAMIL-GOMEZ, W et al. : Diagnostic, prise en charge et suivi des femmes enceintes atteintes d'une infection par le virus Zika : rapport préliminaire de l'étude de cohorte ZIKERNCOL menée à Sincelejo, en Colombie, Travel Med Infect, 2016
28. WAHALA, W & DE SILVA, AM : La réponse immunitaire humaine à l'infection par le virus de la dengue, Viruses, 2011
29. OMS : Chikungunya, http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/, 2017
30. WONG, SJ et al. : Un test immunologique multiplex à microsphères pour le diagnostic du virus Zika, EBioMedicine, 2017
31. KAM, YW et al. : « Séroprévalence et réactivité croisée des anticorps anti-E2EP3 spécifiques du virus du chikungunya chez les patients infectés par des arbovirus », PLOS Neglected Tropical Diseases, 2015

Légende des symboles

	Fabricant	REF	Référence
	Respecter le mode d'emploi		Date limite d'utilisation / Date limite de conservation
IVD	Dispositif de diagnostic *in vitro*		Limite de température (stockage)
LOT	Numéro de lot	CONTROL +	Sérum de contrôle positif
Σ 96	Suffisant pour 96 tests	CONTROL -	Sérum témoin négatif

© Copyright Viramed Biotech AG janvier 2024 0122/0835

VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de