

## **Mode d'emploi**

**RealStar<sup>®</sup>**

**Zika Virus RT-PCR Kit 1.0**

01/2017 FR



# RealStar<sup>®</sup>

## Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Pour utilisation avec

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)

VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)

ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)

Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

LightCycler® 480 Instrument II (Roche)



591013



96



01 2017



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Sommaire

<b>1.</b>	<b>Usage prévu.....</b>	<b>6</b>
<b>2.</b>	<b>Composants du kit.....</b>	<b>6</b>
<b>3.</b>	<b>Conservation .....</b>	<b>6</b>
<b>4.</b>	<b>Matériel requis non fourni .....</b>	<b>7</b>
<b>5.</b>	<b>Informations générales .....</b>	<b>8</b>
<b>6.</b>	<b>Description du produit.....</b>	<b>9</b>
6.1	Instruments de PCR en temps réel .....	10
<b>7.</b>	<b>Mises en garde et précautions.....</b>	<b>10</b>
<b>8.</b>	<b>Mode d'emploi .....</b>	<b>12</b>
8.1	Préparation du prélèvement.....	12
8.2	Préparation du Mastermix .....	13
8.3	Préparation de la réaction .....	15
<b>9.</b>	<b>Programmation des instruments de PCR en temps réel.....</b>	<b>16</b>
9.1	Paramètres.....	16
9.2	Marqueurs de fluorescence (fluorophores) .....	16
9.3	Profil de température et acquisition du fluorophore .....	17
9.4	Remarques spéciales sur la configuration des instruments de PCR en temps réel recommandés .....	18
<b>10.</b>	<b>Analyse des données .....</b>	<b>20</b>
10.1	Validation des tests de diagnostic .....	20
10.1.1	Validité des tests de diagnostic .....	20
10.1.2	Invalidité des tests de diagnostic .....	21
10.2	Interprétation des résultats.....	21
10.2.1	Analyse qualitative .....	21

<b>11. Évaluation des performances .....</b>	<b>22</b>
11.1 Évaluation des performances sans extraction des acides nucléiques .....	22
11.1.1 Sensibilité analytique .....	22
11.1.2 Spécificité analytique .....	23
11.1.3 Précision .....	24
11.2 Évaluation des performances, incluant l'extraction des acides nucléiques....	25
11.2.1 Échantillons de sérum.....	25
11.2.2 Échantillons d'urine .....	32
11.3 Évaluation des performances cliniques.....	39
<b>12. Limites.....</b>	<b>55</b>
<b>13. Contrôle qualité.....</b>	<b>56</b>
<b>14. Assistance technique .....</b>	<b>56</b>
<b>15. Bibliographie .....</b>	<b>56</b>
<b>16. Marques déposées et responsabilité .....</b>	<b>57</b>
<b>17. Explications des symboles .....</b>	<b>58</b>

## 1. Usage prévu

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic *in vitro* basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection de l'ARN spécifique du virus Zika (ZIKV) dans le sérum humain ou l'urine.

## 2. Composants du kit

Couleur du bouchon	Composants	Nombre de tubes	Volume [µL/tube]
Bleu	Master A	8	60
Violet	Master B	8	180
Vert	Internal Control	1	1000
Rouge	Positive Control	1	250
Blanc	Water (PCR grade)	1	500

Internal Control = Contrôle interne

Positive Control = Contrôle positif

Water (PCR grade) = Eau ultra-pure pour biologie moléculaire

## 3. Conservation

- Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est expédié sous glace carbonique. Les composants du kit doivent arriver congelés. Si un ou plusieurs composants ne sont pas congelés à réception, ou si l'un des tubes a été endommagé pendant le transport, merci de contacter altona Diagnostics GmbH pour assistance.
- Tous les composants doivent être conservés entre -25°C et -15°C dès leur livraison.
- Il convient d'éviter des cycles répétés de congélation-décongélation (plus de deux) car cela peut affecter les performances du test. Les réactifs doivent être congelés en aliquots en cas d'utilisation occasionnelle.
- La conservation entre +2°C et +8°C ne doit pas excéder une période de deux heures.

- Le Master A et le Master B doivent être conservés à l'abri de la lumière.

#### 4. Matériel requis non fourni

- Instrument adapté à la PCR en temps réel (Chapitre 6.1 Instruments de PCR en temps réel)
- Système ou kit approprié à l'extraction des acides nucléiques
- Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour des tubes réactionnels de 2 mL
- Centrifugeuse avec rotor pour microplaques, si des plaques de 96 puits sont utilisées
- Vortex
- Plaques de 96 puits ou tubes réactionnels avec le matériel de fermeture correspondant (optique)
- Pipettes (réglables)
- Cônes avec filtres (jetables)
- Gants non talqués (jetables)

#### NOTE



*Merci de vous assurer que les instruments ont été installés, calibrés, vérifiés et entretenus selon les instructions et les recommandations du fabricant.*



*Il est fortement recommandé d'utiliser le rotor de 72 puits avec les tubes réactionnels de 0,1 ml correspondants, si le Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) ou le Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN) est utilisé.*

## 5. Informations générales

Le virus Zika est un virus à ARN enveloppé, simple brin (+), appartenant à la famille des *Flaviviridae*. Comme de nombreux autres membres de cette famille, il est principalement transmis par les moustiques du genre *Aedes*. En 1947, le virus a été isolé, pour la première fois, sur un singe rhésus en Ouganda. Le premier cas humain d'infection au virus Zika a été découvert en 1968 au Nigeria. Initialement, les infections au virus Zika ont seulement été observées chez des patients d'Afrique et d'Asie du Sud-Est. En 2007, le virus a causé une importante épidémie en Micronésie ainsi que sur d'autres îles du Pacifique. La Polynésie française, les Îles de Pâques et les îles Cook ont été affectées en 2013. Depuis 2015, le virus est également endémique en Amérique du Sud, à savoir au Brésil, où un grand nombre de cas suspectés ont été enregistrés. La fièvre, les éruptions et l'arthralgie sont des symptômes et signes courants des infections au virus Zika; ceux-ci sont néanmoins légers et limités.

Les virus Zika, Dengue et Chikungunya étant endémiques dans les mêmes régions géographiques et causant des symptômes semblables, l'identification de l'agent étiologique est seulement possible par un examen en laboratoire. La détection du virus Zika au moyen de la RT-PCR en temps réel doit être réalisée au plus tôt (dans les 10 premiers jours) après le début de maladie. Le dosage d'anticorps présente généralement une réaction croisée avec les flavivirus étroitement liés; la titration des anticorps neutralisants par réduction de plages est délicate et ne peut être réalisée que par des laboratoires spécialisés.

### NOTE



*En raison de l'évolution moléculaire relativement rapide des virus à ARN, il y a un risque inhérent, pour tous les systèmes basés sur la RT-PCR en temps réel, d'accumulation de mutations au cours du temps qui pourraient conduire à des résultats faussement négatifs.*

## 6. Description du produit

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic *in vitro* basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection de l'ARN spécifique du virus Zika (ZIKV) dans le sérum humain ou l'urine. Le kit comprend un système d'amplification hétérologue (contrôle interne) afin d'identifier d'éventuelles inhibitions de la RT-PCR et de confirmer l'intégrité des réactifs du kit.

Le test repose sur la technologie de RT-PCR en temps réel, utilisant une transcriptase inverse (RT) qui permet de convertir l'ARN en ADN complémentaire (ADNc) et une réaction d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) pour l'amplification de séquences cibles spécifiques et de sondes cibles spécifiques pour la détection de l'ADN amplifié. Les sondes sont marquées avec un marqueur fluorescent (reporter) et un désactivateur (quencher).

L'utilisation de sondes associées à des fluorophores différents permet la détection en parallèle de l'ARN spécifique du ZIKV et du contrôle interne dans les canaux correspondants de l'instrument de PCR en temps réel.

Le test consiste en trois processus réalisés dans un même tube réactionnel:

- la transcription inverse de l'ARN cible en ADNc
- l'amplification par PCR de l'ADN, et du contrôle interne
- la détection simultanée des amplicons de PCR par des sondes marquées par un fluorophore

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est composé de:

- Deux Masters (Master A et Master B)
- Un contrôle interne
- Un contrôle positif
- De l'eau ultra-pure (pour biologie moléculaire)

Les réactifs du Master A et du Master B contiennent tous les composants nécessaires (tampon PCR, transcriptase inverse, ADN Polymérase, sel de magnésium, amorces et sondes) afin de réaliser la transcription inverse, l'amplification par PCR et la détection spécifique de la cible (ARN spécifique du ZIKV et du contrôle interne) en une seule étape de réaction.

## 6.1 Instruments de PCR en temps réel

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 a été développé et validé pour être utilisé avec les instruments de PCR en temps réel suivants:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

## 7. Mises en garde et précautions

*Lire attentivement le manuel d'utilisation avant d'utiliser le produit.*

- Avant toute utilisation, veuillez vérifier que le produit et ses composants:
  - Ne sont pas endommagés,
  - Sont complets : nombre, type et volume (voir le chapitre 2. Composants du kit)
  - Sont correctement étiquetés,
  - Sont congelés à la réception

- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel qualifié et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et/ou dangereux, en accord avec les procédures de sécurité en vigueur dans le laboratoire.
- Porter des gants jetables non talqués, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
- Éviter les contaminations microbiennes et nucléaires (par ADNase/ARNase) de l'échantillon et des composants du kit.
- Toujours utiliser des pipettes à cônes jetables avec filtre, non contaminées par de l'ADNase et de l'ARNase.
- Toujours porter des gants de protection non talqués lors de la manipulation des composants du kit.
- Utiliser des zones de travail séparées les unes des autres pour les différentes activités de (i) préparation des échantillons, (ii) préparation de la réaction et (iii) les étapes d'amplification/détection. Le sens de travail dans le laboratoire doit être unidirectionnel. Porter des gants dans chaque zone de travail et les changer avant d'entrer dans une zone différente.
- Dédier des fournitures et du matériel pour chaque zone de travail et ne pas les déplacer d'une zone à une autre.
- Conserver le matériel positif et/ou potentiellement positif séparément des autres composants du kit.
- Ne pas ouvrir les tubes/plaques de réaction après l'amplification afin d'éviter toute contamination par les amplicons.
- Des témoins additionnels peuvent devoir être testés selon les directives des organisations locales/gouvernementales ou des organismes d'accréditation.
- Ne pas autoclaver des tubes réactionnels après une PCR, car ceci ne dégrade pas les acides nucléiques amplifiés et risque de contaminer le laboratoire.
- Ne pas utiliser les composants au-delà de leur date de péremption.
- Éliminer les échantillons et les déchets de l'essai conformément aux règles de sécurité locales.

## 8. Mode d'emploi

### 8.1 Préparation du prélèvement

La qualité de l'ARN extrait a un impact significatif sur la performance de l'ensemble du test. Il est important de s'assurer que le système d'extraction des acides nucléiques utilisé est compatible avec la technologie de PCR en temps réel. Les kits et systèmes suivants sont compatibles pour l'extraction des acides nucléiques:

- QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)
  - Cat. No. 52904 pour 50 extractions
  - Cat. No. 52906 pour 250 extractions

L'extraction de l'ARN avec le QIAamp® Viral RNA Mini Kit doit être réalisée conformément aux recommandations du fabricant, en utilisant 140 µl d'échantillon comme matériel de départ. Pour l'élution de l'ARN extrait, 60 µl de tampon AVE doit être utilisé.

D'autres kits ou systèmes d'extraction des acides nucléiques peuvent être appropriés. L'aptitude de la procédure d'extraction des acides nucléiques à utiliser avec RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 doit être validé par l'utilisateur.

Si la préparation des échantillons s'effectue sur une colonne comportant des tampons de lavage à l'éthanol, une étape de centrifugation supplémentaire de 10 minutes à environ 17000 x g (~ 13000 tr/min), dans un nouveau tube à essai, est vivement recommandée avant l'élution des acides nucléiques.

#### ATTENTION



***L'éthanol est un fort inhibiteur de la PCR en temps réel. Si votre système de préparation des échantillons utilise des tampons de lavage à l'éthanol, assurez-vous d'éliminer toute trace d'éthanol avant de procéder à l'élution des acides nucléiques.***



***L'utilisation d'ARN porteur (carrier) est crucial pour l'efficacité de l'extraction et la stabilité des acides nucléiques extraits.***

Pour toute information complémentaire ou assistance technique sur le prétraitement et la préparation des échantillons, merci de contacter notre support technique (Chapitre 14. Assistance technique).

## 8.2 Préparation du Mastermix

Tous les réactifs doivent être complètement décongelés, homogénéisés (par pipetage ou léger vortexage) et brièvement centrifugés avant utilisation.

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 contient un contrôle interne hétérologue pouvant être utilisé soit comme contrôle d'inhibition de la RT-PCR soit comme contrôle de la préparation de l'échantillon (extraction des acides nucléiques) et de l'inhibition de la RT-PCR.

- Si le contrôle interne est utilisé comme un contrôle d'inhibition de la RT-PCR, mais non comme contrôle de préparation de l'échantillon, le Mastermix doit être préparé comme décrit par le schéma de pipetage ci-dessous:

Nombre de réactions (rxns)	1	12
Master A	5 µL	60 µL
Master B	15 µL	180 µL
Internal Control (contrôle interne)	1 µL	12 µL
<b>Volume de Mastermix</b>	<b>21 µL</b>	<b>252 µL</b>

- ▶ Si le contrôle interne est utilisé comme contrôle de préparation de l'échantillon, et d'inhibition de la RT-PCR, le contrôle interne doit être ajouté au moment de la procédure d'extraction des acides nucléiques.
- ▶ Quelque soit la méthode ou le système utilisé pour l'extraction des acides nucléiques, le contrôle interne ne doit **jamais** être ajouté directement à l'échantillon. Le contrôle interne doit toujours être ajouté au mélange échantillon/ tampon de lyse. Le volume du contrôle interne à ajouter dépend toujours et uniquement du volume d'élution, dont il représente 10%. Par exemple si les acides nucléiques doivent être élués dans 60 µL de tampon d'élution ou d'eau, 6 µL de contrôle interne par échantillon doivent être ajoutés au mélange échantillon/tampon de lyse.
- ▶ Si le contrôle interne a été ajouté pendant la phase de préparation de l'échantillon, le Mastermix doit être préparé selon le schéma de pipetage suivant:

Nombre de réactions (rxns)	1	12
Master A	5 µL	60 µL
Master B	15 µL	180 µL
<b>Volume de Mastermix</b>	<b>20 µL</b>	<b>240 µL</b>

**ATTENTION**

*Si le contrôle interne a été ajouté pendant la phase de préparation de l'échantillon, au moins le contrôle négatif doit inclure le contrôle interne.*



*Ne jamais ajouter le contrôle interne directement à l'échantillon.*

### 8.3 Préparation de la réaction

- ▶ Pipeter 20  $\mu\text{L}$  de Mastermix dans chacun des puits nécessaires de la plaque 96 puits ou d'un tube à essai permettant les réactions optiques.
- ▶ Ajouter 10  $\mu\text{L}$  de l'échantillon (éluat issu de l'extraction des acides nucléiques) ou 10  $\mu\text{L}$  des contrôles (contrôles positifs ou négatifs).

Préparation de la réaction	
Mastermix	20 $\mu\text{L}$
Echantillon ou contrôle	10 $\mu\text{L}$
<b>Volume total</b>	<b>30 <math>\mu\text{L}</math></b>

- ▶ S'assurer qu' au moins un contrôle positif et un contrôle négatif sont utilisés par essai.
- ▶ Homogénéiser avec soin les échantillons et les contrôles avec le Mastermix par pipetage.
- ▶ Couvrir la plaque 96 puits avec un film adhésif transparent approprié et les tubes réactionnels à l'aide de bouchons appropriés.
- ▶ Centrifuger les plaques de 96 puits à l'aide d'un rotor à microplaques pendant 30 secondes à environ 1000 x g (~ 3000 tr/min).

## 9. Programmation des instruments de PCR en temps réel

Pour obtenir des informations générales sur la préparation et la programmation des différents instruments de PCR en temps réel, veuillez consulter les manuels d'utilisation des instruments respectifs.

Pour des instructions sur la programmation relative à l'utilisation du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 avec un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de contacter notre support technique (Chapitre 14. Assistance technique).

### 9.1 Paramètres

- Définir les paramètres suivants:

Paramètres	
Volume de réaction	30 µL
Vitesse de la rampe	par défaut
Référence passive	ROX™

### 9.2 Marqueurs de fluorescence (fluorophores)

- Définir les marqueurs de fluorescence (fluorophores):

Cible	Nom du marqueur	Fluorophore (Reporter)	Désactivateur (Quencher)
ARN spécifique du ZIKV	ZIKV	FAM™	(aucun)
Internal Control (contrôle interne)	IC	JOE™	(aucun)

### 9.3 Profil de température et acquisition du fluorophore

► Définir le profil de température et l'acquisition du fluorophore:

	Étape	Nombre Cycles	Acquisition	Température [°C]	Durée [min:sec]
Transcription inverse	Stationnaire	1	-	55	20:00
Dénaturation	Stationnaire	1	-	95	02:00
Amplification	Cyclique	45	-	95	00:15
			oui	55	00:45
			-	72	00:15

## 9.4 Remarques spéciales sur la configuration des instruments de PCR en temps réel recommandés

Veillez trouver ci-dessous des remarques spéciales sur la mise en place du LightCycler® 480 Instrument II (Roche), du système de détection PCR en temps réel CFX96™ (Bio-Rad), du système de détection PCR en temps réel CFX96™ (Bio-Rad)® 7500 SDS et ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems), Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) et Rotor-Gene® Q 5/6 plex Platform (QIAGEN), VERSANT® kPCR Système Moléculaire AD (Siemens Healthcare) et Mx 3005P™ Système QPCR (Stratagene).

### LightCycler® 480 Instrument II

1. Dans «Experiment settings» (Paramètres de l'expérience), sélectionnez Detection Format: Dual Color Hydrolysis Probe / UPL Probe.
2. Assurez-vous en vérifiant «Customize» (Personnaliser) que le réglage indiqué pour «Filter Combinations» (Combinaisons de filtres) est "FAM™ (465-510) et VIC™ / HEX / Yellow555 (533-580)".

### ABI Prism® 7500 SDS

Passez à «Plate Setup» (la Configuration des plaques), Définir les cibles et les échantillons («Define Targets and Samples»), «Assign Targets and Samples» (Assigner les cibles et les échantillons):

1. Sélectionnez «whole plate»(plaque entière).
2. Cliquez sur les cases d'assignation pour les deux cibles. Les cibles doivent apparaître dans les puits dans la disposition des plaques.

### **ABI Prism® 7500 SDS Fast**

Les mêmes réglages pour «Plate Setup» (Configuration de la plaque) que pour l'ABI Prism® 7500 SDS s'appliquent (voir ci-dessus). Pour la version rapide, allez dans «Experiment properties» (Propriétés de l'expérience). La vitesse de rampe doit être réglée sur «Standard (~2 hours to complete a run)» (Standard (~ 2 heures pour terminer une course)). Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 n'est pas compatible avec les conditions cycliques rapides et les taux de rampe accrus.

### **CFX96™ Real-Time PCR Detection System et CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System**

Ouvrez la fenêtre «Plate Editor» (Editeur de plaques) et sélectionnez tous les puits de la plaque 96 puits. Cliquez sur «Select Fluorophores» (Sélectionner Fluorophores). Pour «Channel 1» (Canal 1) cochez la case derrière FAM™ et pour «Channel 2» (Canal 2) cochez la case derrière VIC™. Affectez des échantillons aux puits en sélectionnant le «Sample Type» (type d'échantillon) approprié et ensuite «Load» (charger) FAM™ et VIC™ dans les puits. Le nom cible de FAM™ doit être réglé sur "Virus Zika" et le nom cible de VIC™ sur «Internal Control» (contrôle interne).

### **Rotor-Gene® 6000 and Rotor-Gene® Q 5/6 plex/MDx Platform**

Choisir le rotor de 72 puits et le volume de réaction approprié. L'optimisation du gain doit être effectuée avant 1<sup>st</sup> acquisition.

### **VERSANT® kPCR Molecular System AD**

Dans le menu déroulant «Instrument», sélectionnez «Filter Set Gain Settings» (Paramètres de gain du set de filtrage). Une fenêtre s'ouvrira. Définissez les configurations suivantes: Cy®5 x8, ROX™ x4, JOE™ x8 et FAM™ x8. Fermez la fenêtre en cliquant sur le bouton "OK".

### **Mx 3005P™ QPCR System**

Dans le menu déroulant «Instrument», sélectionnez «Filter Set Gain Settings» (Paramètres de gain du set de filtrage). Une fenêtre s'ouvrira. Définissez les configurations suivantes: Cy®5 x8, ROX™ x4, JOE™ x8 et FAM™ x8. Fermez la fenêtre en cliquant sur le bouton "OK".

## 10. Analyse des données

Pour des informations de base concernant l'analyse des données sur un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de se référer au manuel de l'instrument concerné.

Pour des informations détaillées concernant l'analyse des données générées avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sur différents instruments de PCR en temps réel, merci de contacter notre support technique (Chapitre 14. Assistance technique).

### 10.1 Validation des tests de diagnostic

#### 10.1.1 Validité des tests de diagnostic

Un test de diagnostic est **valide**, si les valeurs suivantes des contrôles sont obtenues:

Nom du Contrôle	Canal de détection	
	FAM™	JOE™
Contrôle positif	+	+/-*
Contrôle négatif	-	+

\* La présence ou l'absence d'un signal dans le canal JOE™ n'est pas pertinente pour la validité de l'essai.

## 10.1.2 Invalidité des tests de diagnostic

Un test de diagnostic est **invalide**, (i) si l'essai n'est pas complet ou (ii) si l'ensemble des conditions de contrôle pour un test de diagnostics valide n'est pas obtenu.

En cas d'**invalidité** du test de diagnostic, répéter le test avec les acides nucléiques purifiés restants ou recommencer depuis l'échantillon de départ.

## 10.2 Interprétation des résultats

### 10.2.1 Analyse qualitative

Canal de détection		Interprétation des résultats
FAM™	JOE™	
+	+*	ARN spécifique du ZIKV détecté.
-	+	ARN spécifique du ZIKV non détecté. L'échantillon ne contient pas de quantités détectables d'ARN du ZIKV.
-	-	Inhibition de la RT-PCR ou défaillance des réactifs. Répéter le test à partir de l'échantillon d'origine ou bien prélever et tester un nouvel échantillon.

\* La détection du contrôle interne dans le canal de détection JOE™ n'est pas requise pour des résultats positifs dans le canal de détection FAM™. De fortes charges en ARN spécifique du ZIKV dans l'échantillon peuvent conduire à des signaux absents ou très faibles pour le contrôle interne.

## 11. Evaluation des performances

### 11.1 Évaluation des performances sans extraction des acides nucléiques

#### 11.1.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est définie comme étant la concentration (copies/μL d'éluat) de molécules d'ARN spécifique du ZIKV qui peuvent être détectées avec un taux supérieur à 95%. La sensibilité analytique a été déterminée en analysant des dilutions en série d'une concentration définie en ARN du ZIKV quantifié.

**Tableau 1:** Résultats de RT-PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ARN spécifique du ZIKV

[C] initiale [copies/μL]	Nombre de répétitions	Nombre de Positifs	Taux de réussite [%]
31,622	24	24	100
10,000	24	24	100
3,162	24	24	100
1,000	24	24	100
0,500	24	23	96
0,316	24	20	83
0,100	24	10	42
0,050	24	8	33
0,032	24	6	25

La sensibilité analytique du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 a été déterminée par analyse Probit.

- Pour la détection de l'ARN spécifique du ZIKV, la sensibilité analytique est de 0,61 copies/μL [Intervalle de confiance à 95% (CI): 0,39 - 1,27 copies/μL]

### 11.1.2 Spécificité analytique

La spécificité analytique du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est assurée par une sélection minutieuse des oligonucléotides (amorces et sondes). Les séquences de ces derniers ont été comparées aux séquences publiques disponibles afin de s'assurer que toutes les souches intéressantes du ZIKV seront détectées.

La sensibilité analytique du RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 a été évaluée en testant un panel d'ARN génomique extrait d'autres virus non-Zika, alphaherpes et d'autres pathogènes.

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 n'a présenté aucune réaction croisée avec l'un des pathogènes spécifiés ci-dessous:

- Virus de la dengue de sérotype 1
- Virus de la dengue de sérotype 2
- Virus de la dengue de sérotype 3
- Virus de la dengue de sérotype 4
- Virus de l'encéphalite japonaise
- Virus Marburg (MARV)
- Virus Ebola - Soudan (SEBOV)
- Virus de l'encéphalite de Saint-Louis
- Virus du Nil occidental
- Virus de la fièvre jaune
- Virus Ebola - Zaire (ZEBOV)
- Parvovirus humain B19
- Virus du Chikungunya
- Virus de l'encéphalite de la Murray valley
- *Plasmodium falciparum*

#### CAUTION



***En raison d'une séquence homologue entre l'ARN du virus Usutu et la région cible utilisée pour la détection de l'ARN du virus Zika, une réaction croisée avec l'ARN du virus Usutu ne peut être exclue. Le virus Usutu est un virus aviaire, qui infecte rarement les humains. Il ne cause pas de maladie sévère ou fatale et une infection reste usuellement asymptomatique.***

### 11.1.3 Précision

Les données de précision du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 ont été déterminées comme étant la variabilité intra-essai (variabilité au sein d'une expérience), la variabilité inter-essai (variabilité entre différentes expériences) et la variabilité inter-lot (variabilité entre différents lots de production).

Les données de variabilité sont exprimées en termes de valeur moyenne, écart type et de coefficient de variation, sur la base des valeurs de cycle seuil ( $C_t$ ). Pour déterminer la variabilité intra-essai, la variabilité inter-essai et la variabilité inter-lot, au moins six réplicats par échantillon ont été analysés.

**Tableau 2:** Données de précision pour l'ARN spécifique du ZIKV

ZIKV	Valeurs $C_t$ moyennes	Ecart type	Coefficient de variation [%]
Variabilité intra-essai	31,33	0,07	0,21
Variabilité inter-essai	31,35	0,10	0,32
Variabilité inter-lot	31,42	0,11	0,35
Variabilité totale	31,39	0,11	0,35

**Tableau 3:** Données de précision pour le contrôle interne

contrôle interne	Valeurs $C_t$ moyennes	Ecart type	Coefficient de variation [%]
Variabilité intra-essai	28,55	0,06	0,22
Variabilité inter-essai	28,44	0,14	0,49
Variabilité inter-lot	28,44	0,17	0,60
Variabilité totale	28,48	0,15	0,53

## 11.2 Évaluation des performances, incluant l'extraction des acides nucléiques

### 11.2.1 Échantillons de sérum

#### Estimation de la limite de détection (LoD):

On a préparé des dilutions en série de la souche de virus Zika H/PF/2013 (concentration en stock TCID<sub>50</sub> / ml: 10<sup>6,82</sup>) obtenue à partir de l'European Virus Archive (Marseille, France). En utilisant la qRT-PCR et l'ARN transcrit quantifié *in vitro*, on a déterminé que le nombre d'équivalents du génome du virus Zika (geq) par millilitre était de 1,26E + 09.

Pour l'extraction des acides nucléiques, 126 µl de de mélange de sérums ont été combinés avec 560 µl de tampon AVL, contenant 6 µl du Contrôle Interne (fourni avec RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0) et additionnés de 14 µl de stock de virus Zika dilué. Le mélange final a été soumis à la procédure d'extraction suivant les instructions du fabricant pour le kit QIAamp® Viral RNA Mini (QIAGEN). L'élution a été effectuée dans 60 µl de tampon AVE. Chaque échantillon a été extrait en trois exemplaires et testé avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sur CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). La concentration la plus faible, à laquelle les trois répétitions ont été testées positives, a été considérée comme la limite de détection (LoD) provisoire. Les résultats sont présentés dans le Tableau 4:

**Tableau 4:** Détermination de la LoD provisoire pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Cible	Concentration geq/ml	Réplicats détectés	Réplicat 1 C <sub>t</sub> (FAM™)	Réplicat 2 C <sub>t</sub> (FAM™)	Réplicat 3 C <sub>t</sub> (FAM™)
Zika virus (strain H/PF/2013)	2515,71	3/3	33,52	33,76	33,87
	795,61	3/3	35,13	35,36	34,85
	251,62	3/3	36,98	35,92	35,86
	79,57	2/3	42,00	-	36,05
	25,17	1/3	36,74	-	-
	7,96	1/3	-	37,49	-
	2,52	0/3	-	-	-

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit d'extraction manuelle QIAamp® Viral RNA Mini Kit et le CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) ont détecté 3/3 répétitions avec une concentration de 251,62 geq/ml de sérum.

### Confirmation de la limite de détection (LoD):

En se basant sur la LoD provisoire, le stock de virus Zika dilué a été enrichi en 20 échantillons de sérums individuels jusqu'à une concentration finale de 251,62 geq/ml. Les acides nucléiques ont été extraits avec le système QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) comme décrit ci-dessus. Les éluats obtenus ont été testés avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sur les instruments suivants:

- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- Rotor-Gene® Q (QIAGEN)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Les résultats peuvent être trouvés dans les tableaux 5, 6, 7 et 8.

**Tableau 5:** Confirmation de la LoD sur CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (VIC™)
1	+	36,84	31,55
2	+	38,29	32,16
3	+	36,07	31,71
4	+	35,18	31,32
5	+	36,95	31,60
6	+	36,22	31,71
7	+	35,48	32,06
8	+	35,12	32,04
9	+	36,05	31,49
10	+	36,07	31,89
11	+	35,77	31,69
12	-	-	32,68
13	+	36,51	32,17
14	+	36,21	32,32
15	+	34,96	31,66
16	+	36,08	32,18
17	+	35,97	32,05
18	+	35,47	31,41
19	+	36,07	31,86
20	+	36,15	31,87

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (VIC™)
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=19)	36,08	31,87
	SD	0,76	0,34
	CV %	2,09	1,06
	Résultat	19/20	

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit d'extraction manuelle QIAamp® Viral RNA Mini Kit et le CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) a permis de détecter 19/20 répétitions à une concentration de 251,62 geq/ml. La LoD confirmée est de 251,62 geq/ml de sérum.

**Tableau 6:** Confirmation de la LoD sur Rotor-Gene® Q (QIAGEN)

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	34,68	30,34
2	+	36,10	30,74
3	+	35,74	30,57
4	+	34,62	30,05
5	+	34,93	30,29
6	+	35,12	30,58
7	+	35,29	30,60
8	+	35,08	30,63
9	+	34,38	30,32
10	+	36,47	30,42
11	+	34,33	30,29
12	+	36,78	31,39

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
13	+	35,76	31,02
14	+	34,99	30,89
15	+	34,59	30,36
16	+	35,40	30,83
17	+	34,58	30,64
18	+	34,88	30,27
19	+	35,99	30,29
20	+	34,67	30,32
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=20)	35,22	30,54
	SD	0,71	0,32
	CV %	2,01	1,04
	Résultat	20/20	

A la concentration de 251,62 geq/ml, 20/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que la LoD est de 251,62 geq/ml de sérum pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le QIAamp® Viral RNA Mini Kit système d'extraction manuelle et le Rotor-Gene® Q (QIAGEN).

**Tableau 7:** Confirmation de la LoD sur ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	36,18	30,20
2	+	35,11	30,67
3	+	35,02	30,38
4	+	35,49	29,88

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
5	+	34,86	30,35
6	+	35,37	30,09
7	+	35,61	30,33
8	+	34,67	30,28
9	+	34,85	30,12
10	+	35,61	29,91
11	+	34,82	30,05
12	+	35,78	31,07
13	+	34,78	30,95
14	+	36,43	30,75
15	+	34,25	30,19
16	+	35,33	30,57
17	+	34,86	30,31
18	+	36,58	30,00
19	+	35,10	30,13
20	+	34,74	30,32
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=20)	35,27	30,32
	SD	0,62	0,33
	CV %	1,74	1,08
	Résultat	20/20	

A la concentration de 251,62 geq/ml, 20/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que la LoD est de 251,62 geq/ml de sérum pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit Extraction et l'ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems).

**Tableau 8:** Confirmation de la LoD sur le LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	35,55	30,93
2	+	36,93	31,28
3	+	35,84	30,73
4	+	35,49	30,60
5	+	36,89	30,79
6	+	36,48	30,81
7	+	35,88	30,80
8	+	35,37	30,89
9	+	35,46	30,59
10	+	35,85	31,01
11	+	35,90	30,55
12	+	36,33	31,74
13	+	36,30	31,28
14	+	37,59	31,22
15	+	35,74	30,77
16	+	36,18	31,04
17	+	36,48	31,13
18	+	36,00	30,66
19	+	36,48	30,78
20	+	35,82	30,78

Concentration du virus Zika = 251,62 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=20)	36,13	30,92
	SD	0,57	0,29
	CV %	1,57	0,95
	Résultat	20/20	

A la concentration de 251,62 geq/ml, 20/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que le LoD est de 251,62 geq/ml de sérum pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 conjointement avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit Extraction et le LightCycler® 480 Instrument II (Roche).

### 11.2.2 Échantillons d'urine

#### Estimation de la limite de détection (LoD):

On a préparé des dilutions en série de la souche de virus Zika H/PF/2013 (concentration en stock TCID<sub>50</sub> / ml: 10<sup>6,82</sup>) obtenue à partir de l'European Virus Archive (Marseille, France). En utilisant qRT-PCR et l'ARN transcrit quantifié in vitro, on a déterminé que le nombre d'équivalents du génome du virus Zika (geq) par millilitre était de 1,26E + 09.

Pour l'extraction des acides nucléiques, 126 µl de mélange d'urines a été combiné avec 560 µl de tampon AVL, contenant 6 µl du Contrôle Interne (fourni avec RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0) et additionnés de 14 µl de stock de virus Zika dilué. Le mélange final a été soumis à la procédure d'extraction suivant les instructions du fabricant pour le kit QIAamp® Viral RNA Mini (QIAGEN). L'éluion a été effectuée dans 60 µl de tampon AVE. Chaque échantillon a été extrait en trois exemplaires et testé avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sur CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). La concentration la plus faible, à laquelle les trois répétitions ont été testées positives, a été considérée comme la limite de détection (LoD) provisoire. Les résultats sont présentés dans le Tableau 9:

**Tableau 9:** Détermination de la LoD provisoire pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

Cible	Concentration geq/ml	Réplicats détectés	Réplicat 1 C <sub>i</sub> (FAM™)	Réplicat 2 C <sub>i</sub> (FAM™)	Réplicat 3 C <sub>i</sub> (FAM™)
Zika (souche H/PF/2013)	2515,71	3/3	33,15	33,34	33,11
	795,61	3/3	34,10	33,83	35,07
	251,62	3/3	35,54	35,64	35,27
	79,57	3/3	36,78	37,41	36,40
	25,17	2/3	38,38	37,72	-
	7,96	1/3	-	-	38,22
	2,52	0/3	-	-	-

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit d'extraction manuelle QIAamp® Viral RNA Mini Kit et la CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) ont détecté 3/3 répétitions avec une concentration de 79,57 geq/ml d'urine.

### Estimation de la limite de détection (LoD):

En se fondant sur la LoD provisoire, le stock de virus Zika dilué a été enrichi en 20 échantillons d'urine individuels jusqu'à une concentration finale de 79,57 geq/ml. Les acides nucléiques ont été extraits avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) comme décrit ci-dessus. Les éluats obtenus ont été testés avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 sur les instruments suivants:

- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- Rotor-Gene® Q (QIAGEN)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Les résultats peuvent être trouvés dans les tableaux 10, 11, 12 et 13.

**Tableau 10:** Confirmation de la LoD sur CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (VIC™)
1	+	36,72	30,77
2	+	36,34	31,06
3	+	37,21	31,07
4	+	36,41	31,21
5	+	37,89	30,59
6	-	-	31,21
7	+	36,12	31,25
8	+	36,25	30,43
9	+	38,03	30,64
10	+	37,36	31,11
11	+	38,08	31,99
12	+	37,26	30,95
13	+	36,30	31,27
14	+	35,75	31,74
15	+	36,68	31,01
16	+	39,07	31,08
17	+	37,17	31,67
18	+	35,79	31,04
19	+	38,01	31,44
20	+	37,17	31,05

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (VIC™)
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=19)	37,03	31,08
	SD	0,90	0,27
	CV %	2,42	0,87
	Résultat	19/20	

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit d'extraction manuelle QIAamp® Viral RNA Mini Kit et le CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) ont détecté 19/20 répétitions à une concentration de 79,57 geq/ml. Par conséquent, la LoD confirmée est de 79,57 geq/ml d'urine.

**Tableau 11:** Confirmation de la LoD sur Rotor-Gene® Q (QIAGEN)

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	36,45	29,66
2	+	35,47	30,20
3	+	36,03	30,37
4	+	35,70	30,08
5	+	35,97	29,53
6	+	37,38	30,41
7	-	-	30,03
8	+	37,34	30,23
9	+	35,36	29,49
10	+	36,40	30,10
11	+	35,57	29,83
12	+	36,52	29,74

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
13	+	37,59	30,21
14	+	35,49	29,53
15	+	36,12	29,89
16	+	36,53	29,83
17	+	36,76	30,73
18	+	36,55	29,79
19	+	36,19	30,39
20	+	37,39	29,79
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=19)	36,36	29,99
	SD	0,70	0,34
	CV %	1,92	1,13
	Résultat	19/20	

À la concentration de 79,57 geq/ml, 19/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que la LoD est de 79,57 geq/ml d'urine pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit Extraction et le Rotor-Gene® Q (QIAGEN).

**Tableau 12:** Confirmation de la LoD sur ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	36,11	29,48
2	+	36,63	29,97
3	+	35,76	29,94
4	+	37,29	29,85
5	+	36,54	29,56

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
6	+	37,37	29,86
7	+	36,36	30,03
8	+	37,27	30,11
9	+	36,05	29,45
10	+	36,65	30,06
11	+	37,33	29,86
12	+	35,88	29,53
13	+	36,09	30,02
14	+	37,58	29,51
15	+	37,36	29,86
16	+	36,07	29,80
17	+	36,50	30,23
18	+	37,36	29,81
19	+	35,86	30,20
20	+	35,74	29,74
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=20)	36,58	29,84
	SD	0,65	0,24
	CV %	1,79	0,80
	Résultat	20/20	

A la concentration de 79,57 geq/ml, 20/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que le LoD est de 79,57 geq/ml d'urine pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 conjointement avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit Extraction et l'ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems).

**Tableau 13:** Confirmation de la LoD sur LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
1	+	37,29	30,15
2	+	37,03	30,34
3	+	37,67	30,48
4	+	36,83	30,42
5	+	36,58	30,02
6	+	36,90	30,69
7	+	37,50	30,66
8	+	38,63	30,71
9	+	36,74	30,10
10	+	37,95	30,54
11	+	37,13	30,52
12	+	38,12	30,29
13	+	36,53	30,54
14	+	37,41	30,19
15	+	37,16	30,43
16	+	36,70	30,61
17	+	37,79	30,86
18	+	37,28	30,41
19	+	40,00	30,86
20	+	38,42	30,35

Concentration du virus Zika = 79,57 geq/ml			
Echantillon	Positif/Négatif	C <sub>t</sub> (FAM™)	C <sub>t</sub> (JOE™)
Statistiques	Moyenne C <sub>t</sub> (n=20)	37,48	30,46
	SD	0,84	0,24
	CV %	2,25	0,78
	Résultat	20/20	

A la concentration de 79,57 geq/ml, 20/20 répétitions ont été détectées positives et confirment ainsi que la LoD est de 79,57 geq/ml d'urine pour le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 en combinaison avec le kit QIAamp® Viral RNA Mini Kit Extraction et le LightCycler® 480 Instrument II (Roche).

### 11.3 Évaluation des performances cliniques

Pour évaluer la performance clinique du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, un total de 208 échantillons cliniques de 153 patients présentant des signes et des symptômes d'infection par le virus Zika (106 femmes (F) et 47 hommes (M)) ont été analysés rétrospectivement à aveugle. Sur les 208 échantillons testés, 103 étaient des sérums et 105 étaient des échantillons d'urine.

Pour l'extraction de l'ARN, on a utilisé le kit QIAamp® Viral RNA Mini (QIAGEN). 140 µl de chaque échantillon d'urine ou de sérum ont été mélangés avec 560 µl de tampon AVL, contenant 6 µl du contrôle interne fourni avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Le mélange tampon échantillon / AVL a été soumis à la procédure d'extraction suivant les instructions du fabricant. L'élution a été effectuée dans 60 µl de tampon AVE.

Les éluats ont été testés avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, ainsi qu'avec la RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al. (Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, et al. (2008) Genetic and Serologic Properties of Zika Virus Associated with an Epidemic, Yap State, Micronesia, 2007; Emerg Infect Dis. 2008 Aug; 14(8): 1232–1239).

Pour l'exécution de la RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al. les oligonucléotides suivants ont été utilisés (tableau 14):

**Tableau 14:** Les oligonucleotides utilisés pour la RT-PCR en temps réel décrits par Lanciotti et al.

Amorces / sonde	Séquence 5'-> 3'
ZIKV 1086	CCGCTGCCCAACACAAG
ZIKV 1162c	CCACTAACGTTCTTTTGCAGACAT
ZIKV 1107-FAM	AGCCTACCTTGACAAGCAGTCAGACACTCAA

Les deux tests, RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, ainsi que la RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al., ont été réalisés sur le CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad). Les résultats générés pour les différents échantillons testés sont présentés dans le tableau 15:

**Tableau 15:** Résultats des tests sur échantillons cliniques

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
1	F	2	Sérum	-	-	29,88	-	-
		2	Urine	-	-	31,57	-	-
2	F	5	Urine	-	-	29,50	-	-
3	F	1	Sérum	-	-	30,37	-	-
		1	Urine	-	-	29,49	-	-
4	F	1	Sérum	-	-	30,32	-	-
		1	Urine	-	-	30,16	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
5	F	1	Sérum	-	-	31,04	-	-
		1	Urine	-	-	30,10	-	-
6	F	3	Sérum	-	-	30,77	-	-
		3	Urine	-	-	30,14	-	-
7	M	4	Sérum	-	-	30,05	-	-
		4	Urine	-	-	31,21	-	-
8	M	0	Sérum	-	-	29,61	-	-
		0	Urine	-	-	29,72	-	-
9	F	6	Urine	-	-	29,88	-	-
10	F	4	Sérum	-	-	31,88	-	-
		4	Urine	-	-	29,83	-	-
11	F	0	Sérum	-	-	31,33	-	-
		0	Urine	-	-	30,35	-	-
12	M	3	Sérum	-	-	30,10	-	-
		3	Urine	-	-	30,34	-	-
13	F	4	Urine	33,03	+	29,92	33,85	+
14	F	2	Sérum	33,53	+	29,84	32,73	+
15	M	5	Sérum	-	-	30,53	-	-
		5	Urine	33,76	+	30,02	34,83	+

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
16	M	2	Sérum	-	-	30,45	-	-
		2	Urine	-	-	29,87	-	-
17	F	3	Sérum	30,12	+	31,45	29,68	+
18	F	3	Urine	-	-	29,81	-	-
19	F	2	Sérum	-	-	29,60	-	-
		2	Urine	33,41	+	30,24	33,95	+
20	F	6	Urine	-	-	29,85	38,64	+
21	M	2	Sérum	-	-	31,79	-	-
		2	Urine	-	-	29,96	-	-
22	M	1	Sérum	-	-	32,04	-	-
		1	Urine	-	-	29,86	-	-
23	F	2	Sérum	-	-	30,90	-	-
24	F	7	Urine	-	-	30,46	-	-
25	F	0	Sérum	33,35	+	30,43	33,33	+
		3	Urine	31,93	+	31,23	32,81	+
26	F	3	Sérum	-	-	30,81	-	-
		3	Urine	-	-	30,13	-	-
27	F	0	Urine	-	-	29,40	-	-
28	M	5	Sérum	-	-	31,43	-	-
		5	Urine	-	-	30,49	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
29	F	7	Urine	-	-	30,09	-	-
30	M	1	Sérum	-	-	32,57	-	-
		1	Urine	-	-	29,97	-	-
31	F	1	Sérum	35,91	+	31,19	37,41	+
		1	Urine	30,14	+	30,06	30,05	+
32	M	2	Sérum	-	-	30,49	-	-
		2	Urine	-	-	30,29	-	-
33	F	2	Sérum	32,15	+	31,35	31,84	+
34	F	0	Urine	35,43	+	29,90	36,43	+
35	M	7	Urine	34,39	+	29,59	35,78	+
36	F	2	Sérum	-	-	30,01	37,85	+
37	F	2	Urine	-	-	30,02	-	-
38	M	8	Urine	-	-	35,35	-	-
39	F	6	Sérum	30,94	+	30,13	30,34	+
40	M	3	Sérum	-	-	29,80	-	-
		3	Urine	-	-	30,76	-	-
41	M	3	Sérum	-	-	30,36	-	-
		3	Urine	-	-	30,38	-	-
42	F	0	Sérum	30,42	+	31,04	29,72	+
43	M	6	Urine	-	-	30,04	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
44	F	1	Sérum	35,92	+	30,69	36,27	+
		1	Urine	35,16	+	29,77	38,48	+
45	M	6	Urine	-	-	30,06	-	-
46	M	4	Sérum	-	-	30,98	-	-
		4	Urine	-	-	30,11	-	-
47	M	3	Urine	34,23	+	30,42	36,50	+
48	M	2	Urine	26,17	+	29,09	25,65	+
49	M	4	Sérum	-	-	30,08	-	-
		4	Urine	-	-	30,23	-	-
50	F	6	Urine	-	-	29,91	-	-
51	F	2	Sérum	35,04	+	32,35	34,74	+
52	F	3	Sérum	33,48	+	31,29	33,18	+
53	M	5	Sérum	-	-	29,69	-	-
		5	Urine	-	-	30,04	-	-
54	F	1	Sérum	26,08	+	29,83	25,24	+
55	F	2	Urine	-	-	30,02	-	-
56	F	6	Sérum	-	-	31,71	-	-
		6	Urine	-	-	31,11	-	-
57	F	7	Urine	-	-	30,10	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
58	F	4	Sérum	-	-	32,75	-	-
		4	Urine	-	-	30,20	-	-
59	M	1	Sérum	-	-	30,41	-	-
		1	Urine	-	-	29,87	-	-
60	M	0	Sérum	-	-	29,62	-	-
		0	Urine	-	-	29,82	-	-
61	F	2	Sérum	-	-	30,52	-	-
62	F	7	Urine	-	-	30,06	-	-
63	F	0	Sérum	-	-	31,47	-	-
		0	Urine	-	-	29,74	-	-
64	F	7	Urine	28,03	+	30,03	28,68	+
65	F	2	Sérum	37,79	+	29,33	38,15	+
		2	Urine	36,07	+	29,47	37,66	+
66	F	2	Sérum	33,06	+	31,45	33,21	+
67	F	4	Sérum	30,66	+	29,53	30,19	+
68	M	1	Sérum	-	-	30,79	-	-
69	M	2	Sérum	35,08	+	31,68	35,14	+
70	F	3	Urine	-	-	30,39	39,17	+
71	F	1	Sérum	-	-	29,83	-	-
72	M	1	Sérum	36,58	+	31,89	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
73	F	3	Urine	33,36	+	30,55	32,98	+
74	F	4	Sérum	-	-	30,94	-	-
		4	Urine	-	-	30,92	-	-
75	F	3	Sérum	35,03	+	29,82	35,30	+
76	M	3	Sérum	34,06	+	29,57	34,01	+
77	F	3	Urine	35,02	+	31,02	34,66	+
78	F	6	Sérum	32,00	+	30,08	32,03	+
		6	Urine	33,55	+	30,06	35,52	+
79	F	2	Sérum	34,99	+	29,65	36,29	+
		2	Urine	26,59	+	29,72	26,94	+
80	M	3	Sérum	31,93	+	29,78	31,17	+
		3	Urine	37,78	+	32,00	-	-
81	F	4	Sérum	35,07	+	31,86	35,32	+
		4	Urine	34,51	+	30,83	36,42	+
82	F	1	Sérum	33,51	+	29,88	33,09	+
83	F	0	Sérum	26,83	+	33,66	26,55	+
		8	Urine	19,37	+	-*	17,88	+
84	F	3	Urine	34,83	+	30,38	35,38	+
85	M	5	Urine	33,31	+	30,25	33,31	+
86	M	6	Urine	-	-	30,52	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
87	M	3	Sérum	35,07	+	29,62	34,18	+
		3	Urine	31,01	+	30,34	30,48	+
88	F	6	Sérum	-	-	29,54	-	-
		6	Urine	28,58	+	30,67	28,01	+
89	F	3	Sérum	30,87	+	29,74	29,98	+
90	F	2	Sérum	28,58	+	29,51	27,77	+
91	F	1	Sérum	33,71	+	31,35	33,66	+
92	F	3	Urine	35,60	+	30,03	38,29	+
93	M	3	Sérum	36,78	+	29,61	37,92	+
94	M	6	Urine	-	-	30,34	38,81	+
95	F	3	Sérum	37,60	+	30,86	37,61	+
96	F	5	Urine	33,77	+	30,35	34,09	+
97	M	3	Sérum	28,47	+	29,75	27,18	+
98	F	2	Sérum	32,09	+	32,02	31,38	+
		2	Urine	37,64	+	31,16	38,33	+
99	F	1	Urine	33,47	+	30,57	35,44	+
100	F	4	Urine	-	-	30,31	-	-
101	M	7	Urine	-	-	30,30	-	-
102	F	0	Sérum	-	-	32,62	-	-
103	F	3	Urine	33,63	+	30,30	33,45	+

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
104	F	2	Sérum	36,05	+	32,30	36,08	+
		2	Urine	37,63	+	30,10	38,13	+
105	F	0	Sérum	33,25	+	31,81	33,38	+
106	F	1	Urine	34,63	+	29,89	35,41	+
107	F	2	Sérum	37,96	+	32,13	39,51	+
108	F	5	Sérum	33,81	+	29,98	33,68	+
		5	Urine	35,89	+	30,31	36,57	+
109	F	1	Sérum	-	-	30,38	-	-
110	M	7	Urine	-	-	30,61	-	-
111	F	1	Sérum	37,07	+	31,19	38,54	+
112	F	2	Urine	35,76	+	29,94	-	-
113	F	2	Sérum	31,13	+	31,50	30,62	+
114	M	1	Urine	-	-	29,83	-	-
115	F	5	Sérum	-	-	30,30	36,89	+
		5	Urine	31,12	+	30,35	30,34	+
116	F	2	Sérum	35,75	+	30,80	37,02	+
117	F	3	Urine	37,90	+	30,37	-	-
118	F	1	Sérum	35,27	+	33,39	35,16	+
119	F	3	Sérum	35,41	+	32,99	36,20	+
120	F	3	Urine	36,50	+	29,81	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
121	M	6	Urine	28,27	+	30,13	28,31	+
122	M	3	Sérum	30,27	+	29,45	29,05	+
123	M	1	Sérum	25,15	+	28,89	24,59	+
124	F	3	Urine	34,03	+	30,57	35,76	+
125	F	5	Urine	27,22	+	29,90	27,75	+
126	F	3	Urine	34,14	+	30,02	35,86	+
		1	Urine	37,81	+	30,20	-	-
127	F	2	Sérum	27,47	+	29,41	27,38	+
		6	Sérum	37,28	+	32,06	37,99	+
		6	Urine	26,93	+	29,28	25,90	+
128	M	2	Sérum	29,58	+	29,62	28,76	+
129	F	3	Sérum	34,26	+	30,16	33,89	+
		3	Urine	37,72	+	31,16	-	-
130	M	3	Urine	35,43	+	30,31	35,13	+
131	F	0	Sérum	-	-	30,37	-	-
		0	Urine	36,28	+	29,79	36,82	+
132	F	3	Sérum	30,58	+	29,49	30,10	+
133	F	4	Sérum	35,20	+	32,73	35,45	+
134	F	0	Urine	-	-	29,62	-	-

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
135	M	4	Sérum	32,37	+	31,16	32,22	+
		4	Sérum	34,19	+	31,47	34,39	+
		4	Urine	33,21	+	30,41	34,16	+
136	F	0	Sérum	36,58	+	32,12	37,04	+
137	F	3	Urine	32,11	+	29,89	31,41	+
138	F	2	Sérum	34,84	+	30,31	34,56	+
139	M	3	Urine	33,61	+	29,59	33,88	+
140	M	2	Sérum	31,01	+	30,44	30,39	+
		2	Urine	33,44	+	30,17	33,48	+
141	F	4	Urine	31,12	+	29,59	30,32	+
142	F	3	Sérum	33,65	+	29,54	33,50	+
143	F	0	Sérum	29,11	+	30,82	28,39	+
		0	Urine	35,88	+	29,89	37,81	+
144	F	0	Sérum	31,06	+	29,53	30,12	+
145	F	4	Sérum	33,29	+	32,66	33,17	+
146	F	4	Urine	26,17	+	29,81	26,00	+
147	M	1	Urine	-	-	30,58	-	-
148	M	5	Urine	31,22	+	29,70	30,27	+
149	F	2	Sérum	30,07	+	30,23	29,81	+
150	F	0	Sérum	35,36	+	30,58	35,23	+

ID patient	Genre	Jours après l'apparition des symptômes	Type d'échantillon	Zika Virus RT-PCR Kit 1.0			RT-PCR en temps réel décrite par Lanciotti et al	
				C <sub>t</sub> (FAM™)	Call	C <sub>t</sub> (VIC™)	C <sub>t</sub> (FAM™)	Call
151	F	2	Sérum	28,97	+	30,06	28,29	+
152	F	5	Sérum	37,16	+	30,29	-	-
		5	Urine	-	-	30,05	-	-
153	F	2	Sérum	-	-	30,16	-	-

\* La détection du contrôle interne dans le canal de détection VIC™ n'est pas nécessaire pour obtenir des résultats positifs dans le canal de détection FAM™. La charge élevée du virus Zika dans l'échantillon conduit à un signal de contrôle interne absent.

### Analyse des résultats concernant les échantillons de sérum / urine combinés

Des échantillons combinés d'urine et de sérum ont été prélevés sur 52 patients de l'étude et ont été analysés. Un patient a été considéré comme infecté par le virus Zika (c'est-à-dire un état d'infection positif) si le sérum et / ou l'échantillon d'urine ont été testés positifs pour l'ARN spécifique du virus Zika avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al. Le statut était considéré négatif si le sérum et l'échantillon d'urine étaient testés négativement avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al..

Sur les 52 échantillons combinés analysés, 23 ont montré un résultat positif pour le sérum et / ou l'échantillon d'urine (c'est-à-dire l'état d'infection du patient = positif) avec le test de RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al., tandis que 29 échantillons combinés étaient négatifs pour le sérum et l'échantillon d'urine (c'est-à-dire le statut d'infection du patient = négatif). L'ensemble des 23 patients avec un statut d'infection positif ont été testés positifs aussi avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 dans le sérum et / ou dans l'échantillon d'urine. Sur les 29 échantillons combinés de patients présentant un statut infectieux négatif, 28 ont été

testés négatifs pour l'ARN spécifique au virus Zika dans le sérum ainsi que dans l'échantillon d'urine avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Un patient avec un statut d'infection négatif a été testé positif dans l'échantillon de sérum et négatif dans l'échantillon d'urine avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

En conclusion, le pourcentage de concordants positifs des résultats générés avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 et avec les résultats du test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al. est de 100,0%. Le pourcentage de concordants négatifs entre les deux tests est de 96,6%. Les résultats sont résumés dans le tableau 16:

**Tableau 16:** Résumé des résultats pour le statut d'infection du patient (détection de l'ARN du virus Zika dans le sérum et / ou dans l'urine de patients avec des échantillons de sérum / urine combinés). Le nombre total d'échantillons combinés était de 52.

Résultats de l'essai de RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al.	Résultats du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positif		Négatif
23 positifs	23 <sup>†</sup>		0
29 négatifs	1*		28
Total (52 échantillons combinés)	24		28
			95% CI
Pourcentage de concordants positifs	23/23	100,0%	85,7% - 100,0%
Pourcentage de concordants négatifs	28/29	96,6%	82,8% - 99,4%

\* Ce patient est positif que dans l'échantillon de sérum et négatif dans l'échantillon d'urine avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

<sup>†</sup> Quatre de ces patients étaient positifs seulement dans l'échantillon d'urine et négatif dans l'échantillon de sérum pour les deux tests. Deux patients étaient positifs dans l'échantillon de sérum et négatif dans l'échantillon d'urine avec le test décrit par Lanciotti et al., mais positifs dans le sérum et l'échantillon d'urine avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0. Un patient était positif dans le sérum et dans l'échantillon d'urine avec le test décrit par Lanciotti et al., mais seulement positif dans l'échantillon d'urine et négatif dans l'échantillon de sérum avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0

## Analyse des résultats pour les échantillons de sérum

Sur les 103 échantillons de sérum inclus dans l'étude de comparaison, 62 ont été détectés positifs pour l'ARN du virus Zika avec le test de RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al., alors que 41 ont été détectés négatifs. Sur les 62 échantillons positifs de sérum, 60 ont également été détectés positifs avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, alors que deux ont été détectés négatifs. Sur les 41 échantillons de sérum détectés négatifs pour le virus Zika avec le kit RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al. 39 ont été détectés négatifs et deux positifs avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

En conclusion, pour le sérum, le pourcentage de concordants positifs obtenus avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 et avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al. est de 96,8%. Le pourcentage de concordants négatifs entre les deux dosages est de 95,1%. Les résultats sont résumés dans le tableau 17:

**Tableau 17:** Résumé des résultats pour la détection de l'ARN du virus Zika dans les échantillons de sérum. Le total des échantillons de sérum était de 103.

Résultats de l'essai de RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al.	Résultats du RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positif		Négatif
62 positifs	60		2
41 négatifs	2		39
Total (103 échantillons)	62		41
			95% CI
Pourcentage de concordants positifs	60/62	96,8%	89,0% - 99,1%
Pourcentage de concordants négatifs	39/41	95,1%	83,9% - 98,7%

## Analyse des résultats pour les échantillons d'urine

Sur les 105 échantillons d'urine inclus dans l'étude de comparaison, 49 ont été détectés positifs pour l'ARN du virus Zika avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al., tandis que 56 ont été détectés négatifs. Sur les 49 échantillons d'urine positifs, 46 ont également été détectés positifs avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0, alors que trois ont été détectés négatifs. Sur les 56 échantillons d'urine détectés négatifs pour le virus Zika avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al., 50 ont été détectés négatifs et six positifs avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0.

En conclusion pour l'urine, le pourcentage de concordants positifs obtenus avec le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 et avec le test RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al. est de 93,9%. Le pourcentage de concordants négatifs entre les deux essais est de 89,3%. Les résultats sont résumés dans le tableau 18:

**Tableau 18:** Résumé des résultats pour la détection de l'ARN du virus Zika dans les échantillons d'urine. Le nombre total d'échantillons d'urine était de 105.

Résultats de l'essai de RT-PCR en temps réel décrit par Lanciotti et al.	Résultats du kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0		
	Positif		Négatif
49 positifs	46		3
56 négatifs	6		50
Total (105 échantillons)	52		53
			95% CI
Pourcentage de concordants positifs	46/49	93,9%	83,5% - 98,0%
Pourcentage de concordants négatifs	50/56	89,3%	78,5% - 95,0%

## 12. Limites

- Une stricte conformité aux instructions d'utilisation est nécessaire afin d'obtenir les meilleurs résultats.
- L'utilisation de ces produits est limitée au personnel compétent et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Le respect des bonnes pratiques de laboratoire est essentiel pour garantir le bon fonctionnement de ce test. Une attention particulière doit être apportée à la préparation des échantillons afin de préserver la pureté des composants du kit. Tous les réactifs doivent faire l'objet d'une surveillance étroite afin d'éviter des impuretés et des contaminations. Tout réactif suspect doit être éliminé.
- Il est nécessaire de respecter les procédures de prélèvement, de transport, de conservation et de traitement des échantillons afin d'assurer les performances optimales du test.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé directement sur l'échantillon. Des méthodes appropriées d'extraction des acides nucléiques doivent être employées avant son utilisation.
- La présence d'inhibiteurs de RT-PCR (p.ex. héparine) est susceptible d'entraîner des résultats faussement négatifs ou erronés.
- De potentielles mutations dans les zones cibles du génome du virus couvertes par l'amorce et/ou les sondes du test peuvent empêcher la détection de pathogènes.
- Le RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic. En conséquence, ses résultats doivent être interprétés en prenant en considération l'ensemble des symptômes cliniques et des résultats obtenus en laboratoire.
- En raison d'une séquence homologue entre l'ARN du virus Usutu et la région cible utilisée pour la détection de l'ARN du virus Zika, une réaction croisée avec l'ARN du virus Usutu ne peut être exclue. Le virus Usutu est un virus aviaire, qui infecte rarement les humains. Il ne cause pas de maladie sévère ou fatale et une infection reste usuellement asymptomatique.

## 13. Contrôle qualité

Conformément au système de management de la qualité d'Altona Diagnostics GmbH, certifié ISO EN 13485, chaque lot du RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est testé selon des spécifications prédéfinies afin de garantir une qualité constante des produits.

## 14. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique:

**e-mail:**                    **support@altona-diagnostics.com**  
**téléphone:**            **+49-(0)40-5480676-0**

## 15. Bibliographie

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise and David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10th Edition. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.

## 16. Marques déposées et responsabilité

RealStar® (altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™ (Bio-Rad); Cy® (GE Healthcare); FAM™, JOE™, ROX™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucliSENS®, easyMag® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare).

Les noms et marques déposés cités dans ce document, même si non mentionnés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

Le kit RealStar® Zika Virus RT-PCR Kit 1.0 est un kit de diagnostic *in vitro*, marqué CE conformément à la Directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs de diagnostic *in vitro*.

Produit non homologué pour la vente par Santé Canada et n'ayant pas fait l'objet d'une notification (510(k)) ou d'une approbation (PMA) de pré-commercialisation par la FDA.

Produit distribué dans certains pays uniquement.

© 2017 altona Diagnostics GmbH; tous droits réservés.

## 17. Explications des symboles

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Numéro de lot
	Couleur du bouchon
	Référence produit
	Contenu
	Nombre
	Composant
	Code article international
	Lire les instructions d'utilisation
	Contient la quantité suffisante pour réaliser "n" tests (rxns)
	Limites de température
	À utiliser avant
	Fabricant
	Attention
	Note
	Version

**Notes:**

**always a drop ahead.**

altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

**[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)**

