

TBEV / FSME IgM ELISA

Méthode immuno-enzymatique pour le dosage des anticorps IgM dirigés contre le virus de la méningo-encéphalite à tiques dans le sérum, le plasma ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) humain.

REF **RE57411**

 **96**

   **2-8°C**

EU: **IVD**  U.S.: *For research use only.*
Not for use in diagnostic procedures.



1. BUT DU TEST

Méthode immuno-enzymatique pour le dosage des anticorps IgM dirigés contre le virus de la méningo-encéphalite à tiques dans le sérum, le plasma ou le liquide céphalo-rachidien (LCR) humain. Diagnostic précoce d'une infection par le virus de la MET (primo-infection) après une piqûre de tique, si nécessaire en conjonction avec une détermination des IgG anti-MET. Diagnostic différentiel entre d'autres causes de méningites ou de méningo-encéphalites ou de méningo-radiculites. Diagnostic différentiel de la borréliose devant des symptômes grippaux ("grippe d'été") associés au premier stade de l'affection ou des symptômes liés au SNC dans le deuxième stade.

2. SOMMAIRE ET INTRODUCTION

La méningo-encéphalite à tiques (ou encéphalite russe) et la borréliose (maladie de lyme) sont les maladies infectieuses transmises par les tiques les plus fréquentes en Europe. Alors que la borréliose est très répandue, la méningo-encéphalite à tiques (MET) est limitée à quelques foyers endémiques: Allemagne du sud, Thuringe, Autriche, Suisse, Hongrie, Suède, Tchéquie, Slovaquie, Croatie, Slovénie ainsi que certaines régions de la CEI et dans d'autres régions.

Les deux maladies infectieuses montrent une évolution typique en deux ou en plusieurs phases. La phase virémique de la méningo-encéphalite à tiques a une période d'incubation de 3 à 14 jours. La première phase de la maladie (1 à 8 jours) correspond à l'apparition d'une symptomatologie grippale. La deuxième phase peut se manifester après une phase non fébrile d'environ une semaine. Elle se caractérise par des symptômes neurologiques de gravité variée et peut persister pendant de nombreuses semaines.

Les anticorps IgM sont généralement détectables au début de la deuxième phase de la maladie. Ils atteignent leur titre maximal après 2 à 6 semaines, et peuvent être décelés, dans certains cas, jusqu'à 10 mois plus tard. Les anticorps IgG apparaissent en même temps ou quelques jours après les anticorps IgM. L'infection assure une immunité naturelle qui persiste généralement toute la vie. Une protection immunologique peut être obtenue préventivement par vaccination. Des contrôles sérologiques réguliers permettent d'établir si cette protection doit être restaurée (suivi vaccinal).

Les anticorps spécifiques de la méningo-encéphalite à tiques peuvent être mis en évidence dans le LCR suite à un dysfonctionnement de la barrière hémato-encéphalique après ou au cours d'une réaction immunitaire dirigée contre les antigènes du virus de la méningo-encéphalite à tiques ou à la suite d'une réaction immunitaire locale. Dans ce cas, les variations du taux des anticorps dans le compartiment du LCR diffèrent de celles dans le sérum/plasma.

FSME IgG et FSME IgM permettent de différencier les anticorps IgG et les anticorps IgM spécifiques de la MET. Les facteurs rhumatoïde et les IgG spécifiques n'interfèrent pas dans le dosage des IgM grâce à l'addition d'un absorbant des facteurs rhumatoïde et des IgG. La combinaison de ces deux systèmes de tests permet la détermination de l'immunité humorale à la suite d'une vaccination anti-MET ou d'une infection (IgG), le diagnostic précoce d'une primo-infection par le virus de la MET (IgM) et le suivi de l'évolution des taux d'anticorps (IgM/IgG) dans le sérum humain, le plasma et le liquide céphalo-rachidien humain.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test FSME IgM est une méthode immuno-enzymatique en deux temps. Les puits des barrettes ELISA sont recouverts de virus inactivés de la MET. Afin d'exclure l'influence des anticorps IgG anti-MET et des facteurs rhumatoïdes, l'échantillon est dilué dans un absorbant facteur rhumatoïde/IgG (anti-IgG humaine). Au cours d'une préincubation de 15 minutes, les anticorps IgG et les facteurs rhumatoïdes précipitent. Au cours de **l'incubation de l'échantillon**, les anticorps IgM anti-MET sont liés à la phase solide. Les composants non spécifiques de l'échantillon sont éliminés par lavage. Dans un deuxième temps d'incubation s'effectue la **réaction du conjugué**. Le conjugué MET-péroxydase marque les anticorps IgM fixés. Un nouveau lavage élimine le conjugué non lié. Dans un troisième temps d'incubation s'effectue la **réaction du substrat**, la peroxydase du conjugué oxydant le tetraméthylbenzidine (TMB) en une substance colorée en bleu. Cette réaction est arrêtée par addition d'acide sulfurique, et la couleur vire au jaune. La densité optique se mesure à 450 nm à l'aide d'un lecteur ELISA. L'évaluation par le test FSME IgM se fait quantitativement ou qualitativement pour les échantillons de sérum ou de plasma, et qualitativement pour les échantillons de LCR à l'aide des sérums de contrôle LOW CONTROL, HIGH CONTROL, CONTROL.

4. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Seulement prévu au diagnostic in-vitro et à l'usage professionnel.
2. Lire les instructions complètement et avec attention avant de commencer le test. Utiliser la version valide de la fiche technique incluse dans le kit. S'assurer que tout a été bien compris.
3. Dans le cas de dommages importants de l'emballage du kit, veuillez contacter IBL ou votre fournisseur sous forme écrite, une semaine au plus tard après avoir reçu le kit. N'utilisez pas les composants abîmés pour un test, mettez-les de côté et en sécurité pour les besoins éventuels liés à la plainte.
4. Suivez le numéro du lot et la date de péremption. Ne pas mélanger les réactifs de différents lots. Ne pas utiliser de réactifs périmés.
5. Suivre les bonnes pratiques de laboratoire et les directives de sécurité. Porter des blouses de laboratoire, gants en latex à usage unique et lunettes de protection si nécessaire.
6. Les réactifs de ce kit contiennent du matériel dangereux pouvant irriter les yeux et la peau. Consulter le MATERIEL FOURNI et les étiquettes pour les détails. Les Fiches de Données de Sécurité pour ce produit sont disponibles sur le site internet IBL ou sur demande particulière à IBL.
7. Les réactifs chimiques préparés ou utilisés doivent être traités comme matériel dangereux en accord avec les directives et règlements nationaux de sécurité pour tout matériel à risque.
8. Eviter tout contact avec la solution d'arrêt. Elle peut provoquer des irritations et brûlures cutanées.
9. Tous les réactifs de ce kit contenant des sérums ou plasma humains ont été testés et confirmés négatifs à anti-HIV I/II, HbsAg et anti-HCV. Tous les réactifs doivent être considérés comme potentiellement contaminants et utilisés en tant que tel.

5. STOCKAGE ET STABILITE

Le kit est envoyé à température ambiante et doit être stocké à 2-8°C. À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Avant ouverture les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée. Les barrettes de la microplaque sont stables jusqu'à la date de péremption du kit en étant stockées à 2-8°C dans le sachet déjà ouvert, mais hermétiquement refermé. Le stockage et la stabilité des échantillons et réactifs préparés sont indiqués dans les chapitres correspondants.

6. COLLECTE ET STOCKAGE DES ECHANTILLONS

Sérum, Plasma ou LCS

Observer les précautions habituelles de prises de sang. Il est important de préserver l'intégrité chimique d'un échantillon sanguin, de sa collecte jusqu'à son analyse. Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés, ictériques ou lipémiques. Les échantillons d'apparence turbide doivent être centrifugés avant analyse pour éliminer toute particule gênante.

Stockage:	2-8°C	≤ -20°C (Aliquots)	À conserver à l'abri de la chaleur ou de la lumière directe. Eviter tout cycles de congélation / décongélation répétés.
Stabilité:	5 j	12 mois	

7. MATERIEL FOURNI

Quantité	Symbole	Composant
1 x 12 x 8	MTP	Microplaque Prêt(e) à l'emploi. Barrettes sécables. Recouverts de virus inactivés de la MET.
2 x 75 mL	DILBUF	Tampon diluant Prêt(e) à l'emploi. Coloré en rouge. Contient: détergent, 0.005 % (w/v) thimerosal, 0.01 M Tris/HCl; pH 7.4.
1 flacon	ANTIGEN-POD LYO	Conjugué enzymatique Concentré (100) , lyophilisé/e TBE-conjugués à de la peroxydase.
3 x 1 flacon	LOW CONTROL LYO HIGH CONTROL LYO CONTROL- LYO	Control Sérum lyophilisé/e positif: LOW CONTROL, "Low Level", HIGH CONTROL, "High Level" négatif: CONTROL- Contient: sérum humain, stabilisateurs, conservateurs.
1 x 100 mL	WASHBUF CONC	Tampon de lavage , Concentré (10x) Contient: tampon phosphate.
2 x 12 mL	TMB SUBS	Solution Substrat TMB Prêt(e) à l'emploi. Contient: TMB (tetramethylbenzidine).

Quantité	Symbole	Composant
1 x 12 mL	TMB STOP	Solution d'Arrêt TMB Prêt(e) à l'emploi. Contient: 0.5 M H ₂ SO ₄ .
1 x 5 mL	RF-AB CONC	Absorbant RF Concentré (20x) Coloré en rouge. Contient: anticorps anti-IgG humains, stabilisateurs, conservateurs.
2 x	FOIL	Feuille adhésive

Note: Tampon de lavage, Substrat-, Solution d' Arrêt sont interchangeables avec les produits suivants: TBE IgG (RE57401), Diphtherie (RE57431), Tetanus (RE57441).

8. MATERIEL NECESSITE MAIS NON FOURNI

1. Pipettes (Multipipette Eppendorf ou matériel similaire, CV < 3%) Volumes: 5 µL, 50 µL, 200 µL, 250 µL, 300 µL, 500 µL
2. Vortex
3. Tubes pour la dilution des échantillons
4. Agitateur orbital (200-900 rpm) (par ex. EAS 2/4, SLT)
5. Micropipette à 8-canaux avec réservoirs pour réactifs.
6. Bouteille pour lavage, système automatique ou semi-automatique pour le lavage de microplaque
7. Lecteur de microplaque capable de lire l'absorbance à 450 nm (longueur d'onde de référence 600-650 nm)
8. Eau bidistillée ou désionisée
9. Papier absorbant, embouts de pipette et chronomètre
10. Logiciel "Calibration en un point" pour l'évaluation des résultats, utilisant Microsoft Excel 5.0 ou version supérieure (logiciel fourni gratuitement sur demande)

9. NOTES POUR LA PROCEDURE

1. Toute manipulation impropre des échantillons ou modification de la procédure du test peut influencer les résultats. Les volumes indiqués pour pipeter, les temps d'incubation, températures et étapes de pré-traitement doivent être strictement suivis selon les instructions. N'utiliser que des pipettes et appareils calibrés.
2. Une fois que le test a commencé, toutes les étapes doivent être suivies sans interruption. S'assurer que les réactifs, matériels et appareils nécessaires soient prêts au moment approprié. Amener tous les réactifs et échantillons à température ambiante (18-25 °C) et mélanger doucement en tournant chaque flacon de réactif liquide et d'échantillon avant emploi. Mélanger les réactifs sans former de mousse.
3. Eviter toute contamination des réactifs, pipettes et puits/tubes. Utiliser des nouveaux embouts de pipette en plastique pour chaque réactif, étalon ou échantillon. Ne pas interchanger les bouchons. Toujours refermer les flacons non utilisés. Ne pas réutiliser les puits/tubes ou réactifs.
4. Il est recommandé de doser les échantillons en double pour pouvoir identifier d'éventuelles erreurs de pipetage.
5. Utiliser un schéma de pipetage pour vérifier la répartition appropriée de la plaque.
6. Le temps d'incubation affecte les résultats. Tous les puits doivent être manipulés dans le même ordre et au même intervalle de temps. Il est recommandé d'utiliser une micropipette à 8-canaux pour pipeter une même solution dans tous les puits.
7. Le lavage de la microplaque est important. Des puits mal lavés provoqueront des résultats erronés. Il est recommandé d'utiliser une pipette multicanaux ou un système de lavage de microplaque automatique. Ne pas laisser sécher les puits entre les incubations. Ne pas gratter les puits coatés pendant le rinçage ou l'aspiration. Rincer et ajouter les réactifs avec précaution. Lors du rinçage, vérifier que tous les puits soient régulièrement remplis avec le tampon de lavage, et qu'aucun reste ne soit ensuite visible.
8. L'humidité affecte les puits/tubes coatés. Ne pas ouvrir le sachet avant que celui-ci n'ait atteint la température ambiante. Les puits/tubes inutilisés doivent être rangés immédiatement dans le sachet refermé avec le dessiccateur.

10. PREPARATIONS PREALABLES AU TEST

Utiliser des récipients et des pipettes parfaitement propres! Ne pas utiliser d'agitateurs magnétiques! Eviter tout contact avec des métaux! Avant de commencer le test, ramener tous les composants requis à température ambiante (20-26°C).

Préparation des composants lyophilisés

Composant	Volumes	Diluant	Remarques	Stockage	Stabilité
ANTIGEN-POD LYO	300 µL	DILBUF	Mélanger avec précaution. Préparer juste avant utilisation.	2-8°C -20°C	2 semaines 6 mois
LOW CONTROL LYO HIGH CONTROL LYO CONTROL- LYO	350 µL chaque	DILBUF	Laisser 15 minutes à température ambiante (18-25°C) et mélanger 10 sec sur un mélangeur d'échantillons (éviter la formation de mousse).	2-8°C -20°C	2 semaines 6 mois

10.1. Préparation des composants concentrés

Diluer/ dissoudre	Composant	Volumes	Diluant	Relation	Remarques	Stockage	Stabilité
2 mL	RF-AB CONC	40 mL	DILBUF	1:21	Mélanger avec précaution.	2-8°C -20°C	24 h 6 mois
80 µL	ANTIGEN- POD (dissoudre)	8 mL	DILBUF	1:101	Mélanger avec précaution.	18-25°C	1 h
10 mL	WASHBUF CONC	90 mL	Eau bidist.	1:10	Mélanger avec précaution.	2-8°C	2 mois

10.2. Dilution des contrôles et échantillos

	Diluant	Relation	Remarques
LOW CONTROL HIGH CONTROL CONTROL- (dissoudre)	RF-AB (dilué)	1:101	par ex. 10 µL + 1000 µL Pipeter 1000 µl de tampon absorbant FR prêt à l'emploi dans un tube à essai, ajouter 10 µl de sérum de contrôle reconstitué ou d'échantillon, bien mélanger (vortex) et incubé 15 minutes à température ambiante (18-25°C).
Sérum/Plasma	RF-AB (dilué)	1:101	par ex. 10 µL + 1000 µL Pipeter 1000 µl de tampon absorbant FR prêt à l'emploi dans un tube à essai, ajouter 10 µl de sérum de contrôle reconstitué ou d'échantillon, bien mélanger (vortex) et incubé 15 minutes à température ambiante (18-25°C).
LCR	RF-AB (dilué)	1:10	par ex. 50 µL Echantillon + 450 µL Laisser 15 minutes à température ambiante (18-25°C).

11. PROCEDURE DU TEST

1.	Pipeter 200 µL de contrôle/échantillon pré-absorbé par puits. Les contrôles doivent être placés dans les barrettes 1 et 2.
2.	Couvrir la plaque avec une feuille adhésive. Incuber 60 min à TA (18-25°C).
3.	Retirer la feuille adhésive. Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque 4 x avec 250 µL de tampon de lavage dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
4.	Pipeter 200 µL de conjugué enzymatique dilué dans chaque puits.
5.	Couvrir la plaque avec une feuille adhésive. Incuber 60 min à TA (18-25°C).
6.	Retirer la feuille adhésive. Jeter la solution d'incubation. Laver la plaque 4 x avec 250 µL de tampon de lavage dilué. Egoutter l'excès de solution en frappant la plaque retournée sur du papier absorbant.
7.	Utiliser une micropipette à 8 canaux si possible pour l'ajout des solutions substrat et d'arrêt. Pipeter ces solutions à la même cadence. Utiliser un déplacement positif et éviter la formation de bulles d'air.
8.	Pipeter 200 µL de solution substrat TMB dans chaque puits.
9.	Incuber 30 min à TA (18-25°C).
10.	Arrêter la réaction substrat en ajoutant 50 µL de solution d'arrêt TMB dans chaque puits. Mélanger rapidement le contenu en agitant la plaque.
11.	Mesurer la densité optique avec un photomètre à 450 nm ± 10 nm (longueur d'onde de référence: 600-650 nm) dans les 15 min .

12. CONTROLE QUALITE

Les résultats du test ne sont valides que si l'essai a été réalisé en suivant les instructions. De plus, l'utilisateur doit strictement suivre les règles de bonne pratique de laboratoire (GLP, Good Laboratory Practice) ou autres lois/standards applicables. Tous les étalons et contrôles du kit doivent être trouvés dans les gammes acceptables indiquées dans le certificat de Contrôle Qualité (QC). Si ces critères ne sont pas remplis, le test est non valide et il doit être répété. Chaque laboratoire devrait utiliser des échantillons connus comme contrôle supplémentaire.

Il est recommandé de participer aux programmes de contrôle qualité appropriés.

En cas de déviation des résultats, vérifier les origines éventuelles techniques: dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, appareils, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

13. CALCUL DES RESULTATS

Les IgM TBE peuvent être évalués à partir de la gamme étalon ou via « calibration à point unique ».

13.1. EVALUATION QUANTITATIVE DES ÉCHANTILLONS DE SÉRUM ET DE PLASMA

13.1.1. Détermination manuelle des Concentrations

Prendre la valeur moyenne des DO des sérums de contrôle **LOW CONTROL**, **HIGH CONTROL**, **CONTROL** et des échantillons. La DO du **LOW CONTROL** doit être dans la zone mentionnée (voir "feuille d'évaluation pour calibration quantitative en un point").

Calculer le facteur de correction F pour chaque série de test :

$$F = \frac{OD_{450 \text{ nm}} (\text{valeur nominale de LOW CONTROL})}{OD_{450 \text{ nm}} (\text{valeur mesurée de LOW CONTROL})} \quad (\text{équation 1})$$

Multiplier les valeurs des DO des sérums de contrôle et des échantillons par le facteur de correction F. La concentration des sérums de contrôle et des échantillons est obtenue à partir de la courbe de référence spécifique au lot fournie.

Exemple de calcul:

Valeur nominale de **LOW CONTROL** $OD_{450 \text{ nm}} = 0,993$
 Valeur mesurée de **LOW CONTROL** $OD_{450 \text{ nm}} = 1,012$

Facteur de correction	F	= 0,981
DO mesurée de l'échantillon	OD _{450 nm}	= 0,706
DO corrigée de l'échantillon	OD _{450 nm}	= 0,693
Lecture de la concentration	240 VIEU/ml	

13.1.2. Evaluation automatique des concentrations par la calibration en un point "Quantitative"

Ouvrir le fichier excel "calibration en un point" et saisir:

- La valeur nominale d'absorbance de **LOW CONTROL**
- La zone d'acceptation d'absorbance de **LOW CONTROL**

Les coefficients A, B, C et D de la courbe de référence et

- La valeur moyenne d'absorbance de **LOW CONTROL**
- identification valeurs moyennes d'absorbance des sérums de contrôle et des échantillons.

Dans les cellules prévues.

Utiliser les données de la feuille d'évaluation spécifique au lot pour calibration en un point quantitative. L'absorbance mesurée de **LOW CONTROL** doit être dans la zone spécifique au lot indiquée. La correction des absorbances et le calcul des concentrations se fera automatiquement.

13.1.3. Validité du test

Sur le certificat QC.

13.1.4. Evaluation des résultats quantitatifs

Concentration des anticorps IgM anti-MET:

<63 VIEU/ml*	négatif
63–126 VIEU/ml	douteux
>126 VIEU/ml	positif

*VIENNA UNITS (selon Prof. Ch. Kunz/Vienna)

13.2. EVALUATION QUALITATIVE DES ÉCHANTILLONS DE LCR, DE SÉRUM ET DE PLASMA

13.2.1. Evaluation manuelle

Utiliser la moyenne des absorbances des sérums de contrôle **LOW CONTROL**, **HIGH CONTROL**, **CONTROL**, et des échantillons de sérum ou de plasma. L'absorbance de **LOW CONTROL** doit être dans la zone spécifique au lot indiquée. Calculer le facteur spécifique de correction F pour chaque série de test (Eq. 1). La valeur d'absorbance nominale de **LOW CONTROL** et les valeurs seuil 1 et 2 sont spécifiques au lot (voir feuille d'évaluation calibration en un point "qualitative"). Utiliser les valeurs d'absorbance moyenne des échantillons de LCR.

Multiplier les absorbances des sérums de contrôle et des échantillons par le facteur de correction F.

Exemple de calcul:

Valeur nominale de LOW CONTROL	OD _{450 nm} = 0.993
Valeur seuil nominale 1	OD _{450 nm} = 0.240
Valeur seuil nominale 2	OD _{450 nm} = 0.420

Absorbance mesurée de LOW CONTROL	OD _{450 nm} = 1.012
Facteur de correction F	F = 0.981
Absorbance mesurée des éch.	OD _{450 nm} = 0.380
Absorbance corrigée des éch.	OD _{450 nm} = 0.373
Evaluation de l'échantillon :	douteux

13.2.2. Evaluation automatique par la calibration en un point "Qualitative"

Ouvrir le fichier excel calibration en un point "qualitative".

Saisir dans les cellules préparées :

- Valeur nominale d'absorbance de **LOW CONTROL**,
- Zone d'acceptation d'absorbance de **LOW CONTROL**, et
- Valeur nominale d'absorbance des seuils 1 et 2.

L'absorbance mesurée de **LOW CONTROL** doit être dans la zone spécifique au lot indiquée (utiliser les données de la feuille d'évaluation spécifique au lot pour calibration en un point qualitative). The absorbance of must be within the indicated lot specific range (use data from the QCcertificate).

Saisir de plus :

- Valeur moyenne d'absorbance de **LOW CONTROL**, et
- identification et valeurs moyennes d'absorbance des sérums de contrôle et des échantillons.

La correction des absorbances et l'évaluation des échantillon se fera automatiquement.

13.2.3. Validité du test

Sur le certificate QC.

13.2.4. Evaluation des résultats qualitatifs

Les absorbances corrigées sont interprétées pour les anticorps IgM anti-MET :

DO < seuil 1	négatif
seuil 1 < DO < seuil 2	douteux
DO > seuil 2	positif

14. INTERPRETATION DES RESULTATS

Afin de confirmer une infection, **les anticorps IgM anti-MET** doivent être dosés. Afin de s'assurer d'un diagnostic correct **les anticorps IgG anti-MET** doivent aussi être dosés. Lorsqu'un prélèvement de LCR est disponible, la présence des anticorps IgG et IgM anti-MET peut être vérifiée.

14.1. Evaluation des résultats du sérum/plasma

L'interprétation des résultats sérologiques doit tenir compte des antécédents du malade (séjour dans des régions forestière, piqûre de tique, vaccination récente, etc.).

Anticorps IgM anti-MET et anticorps IgG anti-MET négatifs

Il n'y a probablement pas d'infection par le virus de la MET.

Si une telle infection est suspectée, déterminer à nouveau le titre d'IgG/IgM anti-MET dans les 7 à 10 jours sur un nouvel échantillon de sang. L'infection à MET pourra alors être confirmée ou exclue avec un haut degré de probabilité.

En cas de piqûre de tique, un diagnostic différentiel pour d'autres infections du SNC, en particulier de la borréliose, devra être envisagé.

Anticorps IgM anti-MET négatif et anticorps IgG anti-MET positif

Le patient est immunisé ou bien il a contracté l'infection quelques semaines ou quelques mois auparavant.

Si une infection est suspectée, les IgM anti-MET devront être dosés à nouveau sur un nouvel échantillon. Une infection récente à MET pourra alors être confirmée ou exclue avec un haut degré de probabilité.

Anticorps IgM anti-MET positif et anticorps IgG anti-MET négatif

Il s'agit probablement d'une infection par le virus MET. Après une telle infection, les anticorps IgM puis les anticorps IgG apparaissent dans le plasma. Dans la phase précoce de l'infection, le dosage des IgG anti-MET peut d'abord être négatif ou dans la zone douteuse. Il est recommandé d'effectuer un nouveau test pour les IgG anti-MET dans les 7 à 10 jours afin de détecter les modifications de concentration d'anticorps.

Anticorps IgM anti-MET et anticorps IgG anti-MET positifs

Il s'agit probablement d'une infection par le virus MET, s'il n'y a eu aucune vaccination. Le malade présente la symptomatologie typique de la MET mais l'intensité peut varier.

En cas de résultats dans la zone douteuse, répéter le dosage sur un nouvel échantillon de sang dans les 7 à 10 jours et vérifier l'évolution des concentrations d'anticorps.

14.2. Evaluation des résultats du sérum/plasma et du LCR

Si des échantillons de **LCR** sont disponibles, réaliser un dosage à la fois des anticorps IgM et des anticorps IgG anti-MET. Un diagnostic sérologique complémentaire sur du LCR n'est indiqué que si les IgG et les IgM anti-MET sont positifs dans le sérum/plasma. Un résultat positif dans le LCR doit être vérifié en excluant un trouble de la barrière hémato-encéphalique.

L'interprétation de résultats sérologiques doit se faire en tenant compte des antécédents du malade.

Anticorps IgM anti-MET négatifs dans le sérum et dans le LCR

Pas d'infection par le virus de la MET.

Primo-infection par le virus de la MET possible. La détermination a été faite 1 à 13 jours après la piqûre de tique (phase d'incubation). Les IgM anti-MET ne sont pas encore détectables. Une deuxième détermination des IgM dans les 7 à 14 jours permettra d'exclure de façon certaine une infection par le virus de la MET.

Si la piqûre de tique est certaine et si le patient montre des symptômes grippaux associés à une atteinte du SNC, une infection par *Borrelia burgdorferi* ou un autre virus neurotrope devra être suspectée après avoir écarté une infection par le virus de la MET.

Anticorps IgM anti-MET négatifs dans le sérum et douteux dans le LCR

Un tel résultat est invraisemblable. En effet, après la phase virémique, on peut d'abord prévoir une formation d'anticorps dans le sang. Si l'infection évolue avec une atteinte du SNC (4, 6, 7) il y a en plus formation d'anticorps intrathécaux (IgG/IgM). Les infections par le virus de la MET à manifestation primaire ou exclusive au niveau du SNC n'ont pas encore été décrites.

Anticorps IgM anti-MET douteux dans le sérum et négatifs dans le LCR

14 à 28 après l'infection, les symptômes du SNC d'une infection par le virus de la MET deviennent manifestes. Au cours de la phase initiale de la maladie, une augmentation de la concentration des IgM dans le sérum humain devient détectable. 1 à 13 jours après l'infection (premier stade de la maladie, "grippe d'été") le dosage des IgM dans le sérum humain peut encore être négatif ou douteux.

Il est conseillé de renouveler le dosage des IgM dans les 7 à 14 jours qui suivent pour vérifier la cinétique des anticorps.

Anticorps IgM anti-MET douteux dans le sérum et dans le LCR

Voir point 3. Il est possible qu'une manifestation initiale du SNC ou une perturbation de la barrière hémato-encéphalique soit présente. La détermination des IgM (sérum humain/LCR) doit être répétée.

Anticorps IgM anti-MET positifs dans le sérum et négatifs dans le LCR

Il s'agit d'une primo-infection par le virus de la MET après une piqûre de tique. Le patient présente les symptômes typiques d'intensité variable du premier stade de la maladie ("grippe d'été") sans signes d'atteinte du SNC. Afin d'exclure une atteinte du SNC, une nouvelle détermination des IgM dans le LCR est recommandée.

On a procédé à une vaccination avec le vaccin contre la MET (première et deuxième injection de rappel). Le début de la vaccination remonte à moins de 10 mois.

Anticorps IgM anti-MET positifs dans le sérum et douteux dans le LCR

Il s'agit d'une primo-infection par le virus de la MET après piqûre de tiques. Le patient peut déjà présenter les signes d'une atteinte du SNC. Une perturbation de la barrière hémato-encéphalique est possible. Ceci doit être vérifié à l'aide des tests de diagnostic appropriés.

Afin d'exclure ou de confirmer une atteinte du SNC, il est nécessaire de répéter le dosage des IgM du LCR dans les 7 jours.

Anticorps IgM anti-MET positifs dans le sérum et dans le LCR

Il s'agit d'une primo-infection par le virus de la MET après une piqûre de tique. Le malade présente les signes typiques du premier stade d'une infection par le virus de la MET avec atteinte du SNC.

Par contre si le LCR est positif mais qu'il n'y a pas de manifestations apparentes du SNC, une perturbation de la barrière hémato-encéphalique est probable. Ceci doit être vérifié par les tests de diagnostic appropriés.

15. PERFORMANCE

Recouvrement d'échantillons de sérum additionnés :

Variation par rapport à la valeur théorique attendue $\leq 8\%$.

Pour l'imprécision intra-série (n,6-12)

Le coefficient de variation (CV) est $< 7\%$ en se basant sur la densité optique.

Pour l'imprécision inter-séries (n,5)

Un CV $< 17\%$ a été déterminé.

Spécificité :

Un panel de 235 patients en "bonne santé" avec pas d'infection récente à MET et pas d'immunisation connue dans l'historique, a été testé avec un lot de réactif et en double. 2 patients ont donné des résultats faussement positifs. La spécificité (fraction de patients ne présentant pas la maladie et qui sont testés négatifs) est de 99%.

Sensibilité :

Un panel de 151 patients infectés de manière naturelle ont été testés avec un lot de réactif et en double. Un patient a donné un résultat faussement négatif. La sensibilité (fraction de patient présentant la maladie et qui sont testés positives) est de 98%.

Interférences:

Les échantillons hémolysés ou lipémiques n'interfèrent pas avec les résultats du test. Des réactions croisées avec des anticorps dirigés contre d'autres *flaviviridae* (p. ex virus de la dengue, virus de la fièvre jaune, virus du Nil occidental) peuvent avoir lieu.

16. LITTÉRATURE DE REFERENCE DU PRODUIT

1. Berater FSME-Prophylaxe. IMMUNO GMBH, Heidelberg (1993)
2. Die Frühsommer-Meningoenzephalitis und ihre Immunprophylaxe, IMMUNO GMBH, Heidelberg (1992)
3. Roggendorf, M.: Frühsommer-Meningoenzephalitis - Wer soll geimpft werden? Therapiewoche, 40, 1173 (1990)
4. Roggendorf, M. et al.: Serological Diagnosis of Acute Tick-Borne Encephalitis by Demonstration of Antibodies of the IgM Class, J. Med. Virol., 7, 41 (1981)
5. Hofmann, H. et al.; Rapid Diagnosis of Tick-Borne Encephalitis by Means of Enzyme Linked Immunosorbent Assay. J. Gen. Virol., 42, 505 (1979)
6. Hofmann, H. et al.; Immunoglobulins of Tick-Borne Encephalitis in Cerebrospinal Fluid of Men; J. Med. Virol., 4, 241 (1979)
7. Hofmann, H. et al.; ELISA for IgM Antibodies against Tick-Borne-Encephalitis Virus: Quantification and Standardization of Results; Zbl. Bakt. I. Orig., 255, 448 (1983)
8. Hofmann, H. et al.; Detectability of IgM Antibodies against TBE Virus after Natural Infection and after Vaccination. Infection, 11/3, 164 (1983)
9. Togni, G. u. a.: Präanalytik. Schweiz. Med. Forum. 6 113-120 (2002)
10. Heinz, F. et al.; Comparison of Two Different Enzyme Immunoassays for the Detection of Immunoglobulin M Antibodies against Tick-Borne Encephalitis Virus in Humanserum and Cerebrospinal Fluid. J. Clin. Microbiol., 14, 141 (1981)
11. Feldner, J.; RF-Absorbens: IgM-Antikörperbestimmung ohne Rheumafaktor-Interferenz; Lab. med., 14, 283 (1990)

Symbols / Symbole / Symbôles / Símbolos / Símbolos / Σύμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.-Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	Concentrate / Konzentrat / Concentré / Concentrar / Concentrado / Concentrato / Συμπύκνωμα
	Lyophilized / Lyophilisat / Lyophilisé / Liofilizado / Liofilizado / Liofilizzato / Λυοφιλιασμένο
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro Διάγνωση.
	Evaluation kit. / Nur für Leistungsbewertungszwecke. / Kit pour évaluation. / Juego de Reactivos para Evaluació. / Kit de avaliação. / Kit di valutazione. / Κιτ Αξιολόγησης.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / Διαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Keep away from heat or direct sun light. / Vor Hitze und direkter Sonneneinstrahlung schützen. / Garder à l'abri de la chaleur et de toute exposition lumineuse. / Manténgase alejado del calor o la luz solar directa. / Manter longe do calor ou luz solar directa. / Non esporre ai raggi solari. / Να φυλάσσεται μακριά από θερμότητα και άμεση επαφή με το φως του ηλίου.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabricante: / Παραγωγός:
	Caution! / Vorsicht! / Attention! / ¡Precaución! / Cuidado! / Attenzione! / Προσοχή!
<p>Symbols of the kit components see MATERIALS SUPPLIED. Die Symbole der Komponenten sind im Kapitel KOMPONENTEN DES KITS beschrieben. Voir MATERIEL FOURNI pour les symbôles des composants du kit. Símbolos de los componentes del juego de reactivos, vea MATERIALES SUMINISTRADOS. Para símbolos dos componentes do kit ver MATERIAIS FORNECIDOS. Per i simboli dei componenti del kit si veda COMPONENTI DEL KIT. Για τα σύμβολα των συστατικών του κιτ συμβουλευτείτε το ΠΑΡΕΧΟΜΕΝΑ ΥΛΙΚΑ.</p>	

IBL AFFILIATES WORLDWIDE

	IBL International GmbH Flughafenstr. 52A, D-22335 Hamburg, Germany	Tel.: + 49 (0) 40 532891 -0 Fax: -11 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
	IBL Deventer B.V. Zutphenseweg 55, NL-7418 AH Deventer, The Netherlands	Tel.: + 31 570-66 15 15 Fax: -60 73 86 E-MAIL: IBL@IBL-International.com WEB: http://www.IBL-International.com
	IBL - Transatlantic Corp. 288 Wildcat Road, Toronto, Ontario M3J 2N5	Toll free: +1 (866) 645 -6755 Tel.: +1 (416) 645 -1703 Fax: -1704 E-MAIL: IBL@IBL-Transatlantic.com WEB: http://www.IBL-Transatlantic.com

LIABILITY: Complaints will only be accepted in written and if all details of the test performance and results are included (complaint form available from IBL or supplier). Any modification of the test procedure or exchange or mixing of components of different lots could negatively affect the results. These cases invalidate any claim for replacement. Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.