LABORATORY · DIAGNOSTICS

Parvovirus B19 ViraChip® IgM tesztkészlet

Használati utasítás

Chip-immunoblot az **IgM** antitestek kvalitatív kimutatására specifikus **Parvovirus B19** antigének ellen humán szérumban.

A **Parvovirus B19 ViraChip®IgM tesztkészlet** egy enzimimmunoassay alapú immunoblot mikroarray formátumban, amely a következő tisztított Parvovirus B19-specifikus antigéneket használja: **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, **VP2★** és **VP2**. A VP1, VP1-N, VP2-C és VP2 antigének denaturált fehérjékből állnak és lineáris epitópokkal rendelkeznek. A VP2★ vírushoz hasonló kapszid részecskéje konformációs epitópokat (★) mutat (2,12,3,13,9,10).

A Parvovirus B19 ViraChip® IgM tesztkészlet a **98/79/EK** irányelvnek megfelelően készült.

A teszt elve

Egy 96 üreges standard mikrotiterlemez (MTP) minden üregének alján egy nitrocellulóz membrán található, amelyen antigének vannak rögzítve analitikus pontokként (mikroarray). A szérum inkubációja során a parvovírus B19-specifikus antitestek a beteg szérumában kötődnek a mikroarray-en rögzített antigénekhez. A konjugátum inkubációja során a konjugátum kötődik az antigén-antitest komplexhez. A kromogén/szubsztrát oldat hozzáadása után a konjugátum-antitesthez kötődött alkáli foszfatáz átalakítja a kromogént/szubsztrátot, és ezzel lila vagy fekete színűre festi az antigén-antitest komplexet a mikrosoron. A szérum inkubációja, a konjugátum inkubációja és a kromogén/szubsztrát inkubációja után minden esetben mosási lépés következik a nem kötődött antitestek és reagensek eltávolítására.

Minden mikrosorozat az analitfoltok mellett a következő kontrollfoltokat tartalmazza: **szérumkontrollok**, **konjugátumkontrollok, kalibrátorkontrollok** és egy **negatív kontroll**. Az analitfoltok a Parvovirus B19-specifikus antigének **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, **VP2★** és **VP2** elleni antitestek kimutatására szolgálnak.

Az egyértelmű azonosítás érdekében az üregek színkóddal vannak jelölve: a Parvovirus B19 ViraChip® IgM egy **lila negyedkörrel** van jelölve az üreg szélén.

Rendelési szám:	**V-PVCMOK**
Csomag mérete:	**1 MTP, 96 darab külön-külön eltörhető üreggel**
Mintaanyag:	**10 µl szérum**
A teszt időtartama:	**kb. 130 perc**

A készlet tartalma

1 MTP 96 üreggel PVCMAC)	**Parvovirus B19 ViraChip® IgM antigénnel bevont üregek** Egyenként eltörhető üregek ViraChip® mikrosorozatokkal, használatra kész	(Termékszám: V-
12 ml UVCMKI)	**ViraChip® AP-Anti-Human IgM konjugátum** Anti-humán IgM konjugátum oldat ViraChip® tesztekhez, kecskéből, bovin alkáli foszfatázzal, használatra kész	(Rendelési szám: V-
100 ml UVNUWP)	**ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® hígító / mosó puffer** Mosópuffer-koncentrátum ViraChip® tesztekhez, detergensekkel és sókkal a nem specifikus kötődések megakadályozására, 10-szeres	(Rendelési szám: V-
12 ml UVCUCS)	**ViraChip® Kromogén / szubsztrát oldat** Kromogén / szubsztrát oldat ViraChip® tesztekhez, BCIP / NBT-vel, használatra kész	(Rendelnési szám: V-
50 ml UVCUPP)	**ViraChip® Mintapuffer** Mintapuffer ViraChip® t[esztek]hez, tejporral, detergensekkel és sókkal a nem specifikus kötődések megakadályozására, használatra kész	(Rendelnési szám: V-

Opcionálisan kapható

1 MTP-sáv 8 üreggel PVCMRT)	**Parvovírus B19 ViraChip® IgM antigén bevonatú üregek (8)** Egyenként eltörhető üregek ViraChip® mikrosorozatokkal, használatra kész	(Rendelnési szám: V-
330 µl	**Parvovirus B19 ViraChip® IgM pozitív kontroll** IgM pozitív kontrollszérum, humán, használatra kész	(Rend. sz.: V-PVCMPK)
330 µl	**Parvovirus B19 ViraChip® IgM gyengén pozitív kontroll** IgM gyengén pozitív kontrollszérum, humán, használatra kész	(Rend. sz.: V-PVCMWK)
330 µl	**Parvovirus B19 ViraChip® IgG,A,M negatív kontroll** IgG, IgA, IgM negatív kontrollszérum, humán, használatra kész	(Rend. sz.: V-PVCPNK)

További szükséges felszerelés

1. **ViraChip Software®**	a teszt futtatásának előkészítéséhez, végrehajtásához és kiértékeléséhez, v1.3.0-1960-tól	(Rendelési szám: V-VCNUPR)
2. **2D-vonalkód-leolvasó**	a DataMatrix-kódok olvasásához	
3. **Mikrotiterlemez** 96 üreges	a mikro-titerlemez megkezdett sávjainak feltöltéséhez a tartókeretben	(Rend. sz.: V-UVNMTP)
4. **Orbitális rázógép (750 rpm)** vagy **lineáris rázógép (20 Hz)**	a minták és reagenszek keveréséhez a feldolgozás során	
5. **ViraChip® szkenner** UVCSCA)	a kifejlesztett ViraChip® tesztek digitalizálásához/méréséhez, a ViraChip®	(rendelési szám: V-
vagy **ViraChip® Reader** UVCCAM)	szkenner v1.0 vagy ViraChip® olvasó Rev.01	(rendelési szám: V-
6. Opcionális: **ventilátor/szellőző**	a kifejlesztett mikrotiterlemezek gyorsabb szárításához	

A reagensek és a betegminták előkészítése

Minden reagens és a csomagolt mikrotiter lemez használat előtt szobahőmérsékletre (RT: 20-23 °C) kell hozni. Minden reagens használat előtt alaposan keverje össze.

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

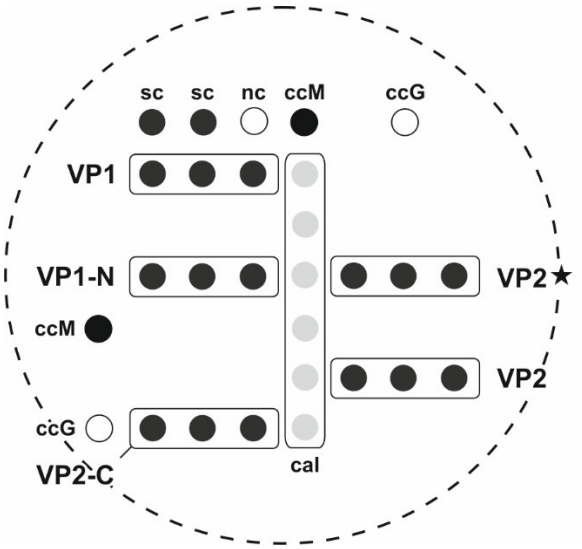
VIRAMED BIOTECH AG • Behringstraße 11 • 82152 Planegg • Germany • HRB 134 839 • Tel.: +49 - (0) 89 - 89 93 36 • Fax: +49 - (0) 89 - 859 99 49
viramed@viramed.de • www.viramed.de

A mosópuffer-koncentrátum ml használati hígítás:	**A mosópuffer-koncentrátumot 1:10** arányban desztillált vagy ionmentes vízzel (H_2 O) hígítsa, pl.: 100 mosópuffer-koncentrátum + 900 ml H_2 O
Minta puffer:	Kész a használatra
Konjugátumoldat:	Kész a használatra
Kromogén / szubsztrát oldat:	Kész a használatra
MTP-üregek:	Óvatosan vegye ki a mikrotiterlemezt (MTP) a csomagolásból, és helyezze a szükséges számú üreget egy üres mikrotiterlemez-keretbe (a teszt futtatásának előkészítése és végrehajtása, 3. pont). A csomagolásból kivéve az üregeket azonnal használja fel. A fel nem használt üregeket azonnal tegye vissza az eredeti csomagolásba, zárja le szorosan és 2-8 °C-on tárolja.
Betegminták:	A betegmintákat **1:76** hígításban használjuk, pl. **10 µl betegminta** + **750 µl mintapuffer**. A hígított mintából a feldolgozáshoz 100 µl szükséges.
Kontrollok:	Szükség esetén a pozitív és negatív kontrollszérumot **1:16** hígításban használjuk, pl.: **10 µl kontrollszérum** + **150 µl mintapuffer**. A hígított kontrollból 100 µl-t használunk a feldolgozás során.

A Parvovirus B19 ViraChip® IgM mikrosorozat felépítése

Antigének:
Minden Parvovirus B19-specifikus antigén, **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, VP2★ és VP2 , háromszor azonos koncentrációban kerül felvitelre spottriplettként. Minden spottriplett egy sávnak felel meg a Western Blot / Immunoblot-ban.

Ellenőrzések:
Minden ViraChip® üreg a következő integrált kontrollokat tartalmazza:
Két szérumkontroll (sc), egy negatív kontroll (nc), két IgG-konjugátumkontroll (ccG), két IgM-konjugátumkontroll (ccM) és hat kalibrátorkontroll (cal).



1. ábra: A mikrotiterlemez egy üregének ábrázolása a Parvovirus B19 ViraChip® IgM mikrosorozattal (nagyítva). Az antigének spot-triplettjeinek és az integrált kontrollok spotjainak elrendezése.

A Parvovirus B19 antigének nomenklatúrája és leírása a szakirodalom alapján

Antigén:	**Megjegyzések:**
VP1 84 kD	lineáris teljes hosszúságú szerkezeti fehérje VP1.
VP1-N 30 kD	lineáris N-terminális VP1, „VP1 egyedi régió"; immunodomináns.
VP2★ 60 x 58 kD	konformatív teljes hosszúságú szerkezeti fehérje VP2, **„VP2 vírus-szerű kapszidrészecskék**".
VP2 58 kD	lineáris teljes hosszúságú szerkezeti fehérje VP2.
VP2-C 47 kD	lineáris C-terminális VP2.

NS1 VP1

VP2 a

VP1

VP1-N

VP2-C b

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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



2. ábra: A Parvovirus B19 genom és az in vivo kódolt fehérjék (a), valamint a Parvovirus B19 ViraChip®IgM (b) antigének sematikus ábrázolása.

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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

A teszt előkészítése és elvégzése

Automatizált feldolgozás esetén az inkubációs idők, a térfogatok és az egyes munkalépések sorrendje eltérhet a következő munkavégzési utasításban leírtaktól. A használt automatizálási megoldás részletes, lépésről lépésre történő leírását, valamint a ViraChip® szoftver használatának útmutatóját a Viramed Biotech AG biztosítja a készülékek beállítása és a képzés során. Lásd még a „Megjegyzések a készülékekről és a szoftverről" című részt.

1. Bizonyíték
A teszt kiválasztása és a mintadatok bevitele a ViraChip® szoftver foglalási tervébe.

2. Töltés
A tesztkészlet és a mikrotiterlemez címkéin található 2D-vonalkódok beolvasása a tételszámok és a tétel-specifikus tényezők (lot specific factors) átviteléhez.

3. Feldolgozás
Végezze el az összes feldolgozási lépést szobahőmérsékleten.

3. Előkészítés
- Helyezze a foglalatba a foglalatnak megfelelő számú üreget.
- Töltse ki a tartókeretben lévő mikrotiterlemez rácsának üres helyeit üres üregekkel. A rácsok a mikrotiterlemezen 1-12-es jelöléssel vannak ellátva.

Ügyeljen arra, hogy a rácsok eltörésekor ne kerüljenek műanyagdarabok a üregekbe.

3.2 Előinkubálás
- Adjon 300 µl mosópuffer-használati hígítást minden üregbe.
- 5 percig szobahőmérsékleten inkubálja a rázógépen.
- Szívja le a folyadékot.

3.3 Széruminkuváció
- Az elrendezési tervnek megfelelően adjon 100 µl hígított betegmintát vagy 100 µl hígított kontrollszérumot a megfelelő üregbe.
- 30 percig szobahőmérsékleten inkubálja a rázógépen.
- A folyadékot elszívni .

3.4 3 x mosás
- Minden üregbe adjon 300 µl mosópuffer-használati hígítást .
- 5 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubálja.
- A folyadékot felszívni.

Az elszívó tűket úgy állítsa be, illetve a pipettákat úgy használja, hogy az üregek alja ne sérüljön.

3.5 Konjugátum inkubálása
- Minden üregbe adjon 100 µl konjugátumoldatot ( ).
- 30 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubálja.
- Szívja le a folyadékot.

Az inkubációs lépések során az üregek alját teljesen folyadékkal kell borítani.

3.6 3 x mosás
- Adjon 300 µl mosópuffer-használati hígítást minden üregbe.
- 5 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubálja.
- A folyadékot felszívni.

3.7 1 x mosás
- Minden üregbe adjon 300 µl desztillált vagy ionmentesített vizet.
- 1 percig inkubálja szobahőmérsékleten.
- Szívja le a folyadékot.

3.8 Szubsztrát inkubáció
- Adjon 100 µl kromogén/szubsztrát oldatot minden üregbe.
- 15 percig inkubálja szobahőmérsékleten a rázógépen.
- Leállás: a folyadékot felszívni.

3.9 3 x mosás
- Minden üregbe adjon 300 µl desztillált vagy ionmentesített vizet.
- Nincs közbenső inkubálás.
- Szívja le a folyadékot.

Az inkubációs és mosási lépések során használjon orbitális rázógépet, amelynek frekvenciája kb. 750 rpm-re állítható, vagy lineáris rázógépet, amelynek frekvenciája kb. 20 Hz-re állítható.

3.10 Üregek szárítása
20 percig, maximum 60% páratartalom mellett, folyamatos légáramlat mellett szárítsa meg.

Magasabb páratartalom esetén a száradási idő meghosszabbodhat. Alternatív megoldásként hagyja 12 órán át szobahőmérsékleten, fénytől védve száradni.

4. Beolvasás
A ViraChip® mikroarrayeket a ViraChip® szkennerrel vagy a ViraChip® olvasóval mérje meg.

A ViraChip® mikroarrayek méréseit a feldolgozás után 24 órán belül kell elvégezni (a mikrotiterlemezt fénytől védve tárolja). A pontos eljárást kérjük, olvassa el a készülék kézikönyvében.

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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

5. Elemzés

5.1 Az antigén-spot triplett és a kontrollspotok hozzárendelésének ellenőrzése (technikai validálás)

A ViraChip® szoftver minden spotot a pozíciója alapján automatikusan a megfelelő antigén-spot tripletthez vagy kontroll spothoz rendel.
Az automatikus hozzárendelést vizuálisan ellenőrizni kell az 1. ábrán látható mintával. Azokat a hozzárendeléseket, amelyek nem felelnek meg a bemutatott mintának, a „QC" mezőben „érvénytelen" értékre kell állítani. A megfelelő mintát meg kell ismételni.

5.2 Érvényességi ellenőrzés

Az érvényességi ellenőrzést a ViraChip® szoftver automatikusan elvégzi.

A ViraChip® mikroszkópikus mátrix akkor érvényes, ha a következő kontrollpontok megfelelnek a ViraChip® szoftverben tárolt kritériumoknak:
- **Szérumkontrollok** (sc) a határérték felett
- **IgM konjugátum kontrollok** (ccM) a határérték felett
  Az IgM konjugátum kontrolloknak erősebben kell reagálniuk, mint a többi konjugátum osztály kontrolljainak.
- **Kalibrátorkontrollok** (cal) a határérték felett
- **Negatív kontroll** (nc) a határérték alatt

Ha az egyik fenti kritérium nem teljesül, a ViraChip® mikroszkópikus hálózatot „érvénytelennek" minősítik. Az érvénytelen ViraChip® mikroszkópikus hálózatokat nem szabad kiértékelni, azokat meg kell ismételni.

5.3 A ViraChip® mikroarrayek értékelése

A betegminták értékelését a ViraChip® szoftver automatikusan végzi el a következő értékelési kritériumok alapján:

A ViraChip® egységeket minden spot triplettben a ViraChip® szoftver számítja ki, figyelembe véve a tétel-specifikus tényezőket a kalibrátor kontrollokhoz viszonyítva.

Értékelési kritériumok

ViraChip® egységek a spot triplettben	**Eredmény**	**Értékelés**
Legalább **két** spot triplett **≥ 100 ViraChip®egység** a következőkből: VP1, VP1-N, VP2-C, VP2★ , VP2	**Pozitív**	**A Parvovirus B19** ellen specifikus antitestek kimutathatók. Akut fertőzés valószínű. Kiegészítő IgG antitest státusz ellenőrzése. A vírus DNS kimutatása ajánlott.
Legfeljebb egy spottriplett ≥ 100 ViraChip®egység: VP1, VP1-N, VP2-C, VP2★ , VP2	**Negatív**	Nincs vagy csak kis mennyiségű specifikus antitest mutatható ki **a Parvovirus B19** ellen. Nem zárja ki az akut fertőzést. Ellenőrizze az IgG antitestek állapotát is.

A Parvovirus B19 antitestek diagnosztikai jelentősége

1. Az IgG antitestek a VP1 és VP2 ellen körülbelül 10-12 nappal a fertőzés után alakulnak ki (22,14,17,18,1). Ezek mind a lineáris, mind a konformációs epitópok ellen irányulnak. Az IgG antitestek egész életen át megmaradnak, és immunokompetens személyeknek immunitást biztosítanak a Parvovirus B19 újrafertőzésekkel szemben (3,22,14,17,27,4,18,1,6). Az akut fázisban az IgG reaktivitás főként a VP2 antigének ellen irányul (22). A VP1 lineáris epitópjai, különösen az N-terminális rész, amelyet „VP1 unique region"-nak neveznek, ellen termelődő antitestek az akut fertőzés után is évekig kimutathatók, míg a VP2 lineáris epitópjai ellen termelődő IgG antitestek reaktivitása már körülbelül 6 hónap után csökken (22,27,4,18,11). A VP2 lineáris epitópjai ellen termelődő antitestek kimutatása ezért akut vagy nemrégiben átesett Parvovirus B19 fertőzésre, illetve lábadozásra utal (22,11). Ez a reaktivitás főként a VP2 C-terminális részét érinti. Ebben a területben olyan peptidszekvenciák találhatók, amelyeket akut fázisú szérumokkal diagnosztikai „hot spot"-ként azonosítottak akut markerként (11). A VP1 és VP2 konformációs epitópjai ellen termelődő IgG antitestek korán kialakulnak és egész életen át megmaradnak (12,3,13,9,17,27,4,18). A VP2 vírus-szerű kapszidrészecskék konformációs epitópjai ellen termelődő IgG antitestek kimutatása korábbi fertőzésre utal. Ezért kimutatásuk az immunitás indikátora (3,22,14,17,27,4,18,1).

A VP1 jelentősen hatékonyabb immunválaszt mutat semlegesítő hatással, mint a VP2 (21,17,19,4,18). A „VP1 unique region" különösen immunodomináns, és az ellenanyagok főként a vírus semlegesítéséhez járulnak hozzá (5,19,27,4). Az IgG ellenanyagok semlegesítő hatása ellenére a fertőzött terhes nők gyakran hosszabb akut fázisban vannak, és hónapokig vírusterheltek (18,6). Az NS1 nem szerkezeti fehérje ellen termelődő IgG antitesteket eredetileg a parvovírus B19 fertőzések súlyos lefolyásával hozták összefüggésbe (26). Azóta azonban többször is kimutatták, hogy a fertőzött személyeknél az NS1 IgG reaktivitás független a betegség súlyosságától vagy a tünetektől. Az NS1 ellen termelődő IgG antitestek általában körülbelül 6-8 héttel a kórokozóval való érintkezés után jelennek meg (20,25,16,8).

2. Az **IgM antitestek** kimutatása akut fertőzésekre utal, de önmagában nem elegendő, mivel az IgM-negatív betegek is lehetnek akut fertőzési fázisban (18). Az IgM antitestek általában 7-10 nappal a fertőzés után jelennek meg először. Általában az IgM-válasz a következő 3 hónap során csökken. Gyakran már 3 héttel a vírussal való érintkezés után nem lehet IgM-et kimutatni (9,10,17,27,4,18,1,15). Ekkor a betegek, különösen a terhes nők, még vírushordozók lehetnek, és ezért még az akut fázisban vannak (18,6). Az IgM antitestek főként a VP2-specifikus epitópok ellen irányulnak (17). Ennek során mind a lineáris, mind a konformációs epitópok fontos szerepet játszanak (27,18,15,7). A konformációs epitópok esetében a VP1 és VP2 ellenes antitestek körülbelül egyidejűleg jelennek meg a fertőzés után, wobei az IgM antitestek a lineáris VP1 epitópok ellen valamivel hosszabb ideig maradnak fenn, mint a lineáris VP2 epitópok ellen (27,18,15,7). Az NS1 ellen termelődő IgM antitestek általában nem rendelkeznek diagnosztikai jelentőséggel (27,18,15,7). Általában az IgM antitestek a Parvovirus B19-specifikus antigének ellen az első 3 hónapban csökkennek (12,3,13,9,22,14,19,27,4,18,15).

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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

3. Az IgA antitestek a klinikai tünetek megjelenése után az esetek körülbelül 50%-ában rövid ideig kimutathatók, és általában nincs további diagnosztikai jelentőségük (7).

Teljesítményadatok

Korreláció referenciatesekkel, szeroprevalencia és keresztreaktivitás

A korreláció meghatározásához különböző kollektívákból származó pozitív és negatív szérumokat vizsgáltak a **Parvovirus B19 ViraChip® IgM**-mel, összehasonlítva egy-egy referencia teszttel (ELISA, IFT vagy Parvovirus B19 ViraStripe® IgM).

Vírus DNS-pozitív szérumok (10^3 -10^{12} IU/ml*)	**Referencia teszt ELISA**		**Referencia teszt IFT**		**Referencia teszt Parvovírus B19 ViraStripe® IgM**	
	n = 30		**n = 30**		**n = 30**	
Parvovírus B19 ViraChip® IgM	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Pozitív	**13**	**0**	**13**	**0**	**12**	**1**
Negatív	**1**	**16**	**1**	**16**	**0**	**17**
	Korreláció: 97 %		**Korreláció: 97 %**		**Korreláció: 97 %**	

*) IU/ml megközelítőleg genomegyenértéknek felel meg ml vérben

szérum egészséges személyek	**Referencia teszt ELISA**		**Referencia teszt IFT**		**Referencia teszt Parvovírus B19 ViraStripe® IgM**	
	n = 197		**n = 197**		**n = 197**	
Parvovírus B19 ViraChip® IgM	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív	Pozitív	Negatív
Pozitív	**0**	**2**	**1**	**1**	**2**	**0**
Negatív	**1**	**194**	**2**	**193**	**0**	**195**
	Korreláció: 98 %		**Korreláció: 98 %**		**Korreláció: 100 %**	

Parvovírus B19 ViraChip® IgM	**IgM szeroprevalencia vérdonoroknál** (nem szelektált)	**IgM reaktivitás potenciálisan keresztreagáló szérumoknál***
	n = 130	**n = 56**
Pozitív	**1**	**3**
Negatív	**129**	**53**
	Szeroprevalencia: <1,0 %	

*) Potenciálisan keresztreaktív szérumok (HHV6 n = 1, HHV7 n = 10, HSV n = 22, kanyaró n = 2, mumpsz n = 13, rubeola n = 11, VZV n = 13)

Követelmények a felhasználóval szemben

1. Ezt a tesztet csak olyan szaklaboratóriumban szabad elvégezni, amely rendelkezik a megfelelő laboratóriumi felszereléssel (pl. a „jó laboratóriumi gyakorlat" (GLP) szerint) és az esetlegesen szükséges hatósági engedélyekkel a tesztelendő minták kezeléséhez.

2. A pontos teszt eredmény elérése érdekében be kell tartani a használati utasítást és a GLP-t.

3. Ezt a tesztet csak olyan szakemberek végezhetik, akik a teszteljárás tekintetében képzésben részesültek.

A reagensek tárolása és eltarthatósága

1. ViraChip® mikroszkópok: Zárt eredeti csomagolásában 2-8 °C-on a lejárati időig tárolható.
2. Mosópuffer-koncentrátum, 10-szeres: 2-8 °C-on a lejárati időig tárolható.
3. Mosópuffer használati hígítás: 2-8 °C-on kb. 2 hétig tárolható. Hosszabb tárolás esetén a használati hígítás aliquotokban -20 °C-on fagyasztható.
4. Minta puffer: 2-8 °C-on a lejárati időig tárolható.
5. Konjugátumoldat: 2-8 °C-on a lejárati időig tárolható.
6. Kromogén/szubsztrát oldat: 2-8 °C-on a lejárati időig tárolható. Fénytől védve tárolandó!
7. A reagensek és a készlet összetevőinek első kinyitása után, megfelelő használat („jó laboratóriumi gyakorlat") és a címkén feltüntetett tárolási feltételek betartása mellett, az eredeti csomagolásban általában a lejárati időig megmarad a szavatossági idő.

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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

Óvintézkedések / Biztonsági előírások

1. Minden humán szérumkomponenst HCV-, HIV1,2-ellenanyagok és HBs-antigén tekintetében vizsgáltak, és negatívnak találtak. Mindazonáltal minden humán készletkomponenst, csakúgy mint a betegmintákat, potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és megfelelő óvintézkedések mellett kell használni. Potenciálisan veszélyes vagy fertőző anyagokkal végzett munkák során be kell tartani a vonatkozó nemzeti/nemzetközi törvényeket, rendeleteket és előírásokat. Ez vonatkozik a felhasznált vegyszerek és reagensek tárolására és ártalmatlanítására is.
2. A veszélyes és biológiai anyagokkal való munkavégzés során a laboratóriumokra vonatkozó, jelenleg hatályos országspecifikus irányelvekben előírt védőintézkedéseket be kell tartani. Az intézkedések között szerepelnek többek között a következők:
– Ne pipettázzon a szájával.
– Egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget/arcvédőt viselni.
– A munkahelyen ne egyen, ne igyon és ne dohányozzon.
3. Kerülje a bőr és a nyálkahártyák érintkezését a kromogén/szubsztrát oldattal. Bőrrel vagy szemmel való érintkezés esetén azonnal öblítse le bő vízzel.
4. A mintákat és az összes potenciálisan szennyezett anyagot, valamint a folyékony fertőző hulladékokat az általánosan elfogadott laboratóriumi irányelveknek megfelelően kell fertőtleníteni, pl. legalább 20 perces autoklávozással 121 °C-on. A folyékony hulladékok ártalmatlanításához ezeket pl. nátrium-hipoklorittal keverhetjük össze olyan térfogatarányban, hogy a végső keverék 1% nátrium-hipokloritot tartalmazzon. A teljes fertőtlenítéshez hagyjuk hatni 30 percig.
5. A lehetséges veszélyekkel, az elsősegély-nyújtási intézkedésekkel, a nagyobb mennyiségek véletlen kibocsátása esetén teendő intézkedésekkel, a kezeléssel és tárolással, a személyi védőfelszereléssel, a hulladékkezeléssel kapcsolatos információkkal, valamint a toxikológiai adatokkal kapcsolatos információk a biztonsági adatlapokban találhatók.
6. Kerülje a por és egyéb szennyeződések bejutását az MTP üregeibe, mivel ez érvénytelen eredményeket eredményezhet.

A betegminták begyűjtése, kezelése és tárolása

1. A **Parvovirus B19 ViraChip® IgM tesztkészletet** humán szérummal mint mintával kell elvégezni.
2. A mintavételt egészségügyi szakembernek kell elvégeznie a teljes vérből, a hatályos szabványoknak megfelelően (24).
3. A hőkezeléssel előkezelt, hemolitikus, ikterikus vagy lipémiás minták érvénytelen eredményeket adhatnak.
4. A minták nem lehetnek mikrobiálisan szennyezettek.
5. Általában a hígítatlan minták 2–8 °C-on legfeljebb 5 napig tárolhatók
tárolhatók. 24 hónapos tároláshoz a mintákat legalább -20 °C-on kell fagyasztani.
6. A vizsgálat megkezdése előtt a mintákat szobahőmérsékletre kell hozni. A felolvasztás után a mintákat óvatosan keverje össze, és szükség esetén centrifugálással távolítsa el a látható részecskéket.
7. A minták ismételt fagyasztását és felolvasztását kerülni kell.

A vizsgálati eljárás korlátai

1. A betegminták pozitív vizsgálati eredményét tünetként kell értékelni. A vizsgálati eredmények értelmezését és értékelését kizárólag egészségügyi szakemberek végezhetik, az összes releváns adat figyelembevételével (23).
2. A negatív teszt eredmény nem zárja ki a kórokozóval való érintkezést vagy a fertőzést.
3. A specifikus antitestek kimutatása különböző tesztekkel vagy különböző gyártók termékeivel végzett vizsgálatok esetén eltérő eredményekhez vezethet a különböző érzékenységek, specifitások és vizsgálati módszerek miatt.
4. Immunszuppresszió esetén a vizsgálat értékelhetősége korlátozott (23).
5. A gyógyszerek és az immunglobulin-adagok nem specifikus antitestreakciókat válthatnak ki (23).
6. Az *in vitro* diagnosztikumokat a feltüntetett lejárati idő után nem szabad használni, mivel akkor már nem garantálható a megbízható eredmény.
7. A pontos tesztelési eredményekhez elengedhetetlen a munkavégzési utasítások pontos betartása. A mosási lépések nem megfelelő végrehajtása hibás eredményeket okozhat.
8. Több szérum együttes vizsgálatára szolgáló pool minták használata nem megengedett, mivel ilyen esetben a teszt érzékenysége és specifitása romolhat.

Megjegyzések a készülékekről és a szoftverről

1. Automatizált végrehajtás esetén a Viramed Biotech AG által validált, az adott processzor típushoz megfelelő munkafolyamatokat kell programozni és használni.
2. Processzor-specifikus fogyóeszközök használata esetén a megfelelő konfigurációkat a gyártó utasításai szerint a Viramed Biotech AG-nak jóvá kell hagynia.
3. A Viramed Biotech AG által biztosított eszköz- és szoftverkonfigurációt nem szabad megváltoztatni. Bármilyen változtatás hibás eredményeket okozhat.
4. Kizárólag az eszközhöz tartozó szoftvert szabad használni. A konfigurációs fájlokban csak a Viramed Biotech AG végezhet módosításokat.
5. Mérőeszközként kizárólag a Viramed Biotech AG által engedélyezett rendszerek használhatók.
6. A ViraChip® mikroszkópok kiértékelése kizárólag a ViraChip® szoftver segítségével történik. Kézi/vizuális kiértékelés nem lehetséges.

Irodalom

1. ANDERSON, MJ et al.: Experimental parvoviral infection in humans, J Infect Dis, 1985
2. BROWN, CS et al.: Üres kapszidok összeállítása humán parvovírus B19 szerkezeti fehérjéket expresszáló baculovírus rekombinánsok felhasználásával, J Virol, 1991
3. BROWN, CS et al.: Localization of an immunodominant domain on baculovirus-produced parvovirus B19 capsids: correlation to a major surface region on the native virus particle, J Virol, 1992
4. CORCORAN, A et al.: A B-sejt memória a parvovírus B19 kapszidfehérjék konformációs epitópjaira és a VP1 egyedi régiójára irányul, J Infect Dis, 2004
5. DORSCH S, et al.: A parvovírus B19 VP1 egyedülálló régiója: aminosav-variabilitás és antigén stabilitás, J General Virology Vol, 2001
6. ENDERS, M et al.: Emberi parvovírus B19 fertőzés terhesség alatt – a modern molekuláris és szerológiai diagnosztika értéke, J Clin Virol, 2006
7. ERDMANN, DD et al.: Emberi parvovírus B19-specifikus IgG, IgA és IgM antitestek és DNS szérummintákban erythema infectiosumban szenvedő személyektől, J Med Virol, 1991
8. JONES LP, et al.: Antibodies to human Parvovirus B19 nonstructural protein in persons with various clinical outcomes following B19 infection, J Infect Dis Vol, 1999
9. JORDAN, JA: Baculovírus-alapú VP2 enzimimmunoassay (EIA) és Escherichia coli-alapú VP1 EIA összehasonlítása humán Parvovírus B19 immunglobulin M és immunglobulin G kimutatására terhes nők szérumában, J Clin Microbiol, 2000

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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

10. JORDAN, JA: Diagnosing Human parvovirus B19 infection: Guidelines for test selection, Mol Diagn, 2001
11. KAIKKONEN, L et al.: Akut fázis-specifikus heptapeptid epitópok a parvovírus B19 fertőzés diagnosztizálásához, Clin Microbiol, 1999
12. KAJIGAYA, S et al.: A baculovírus rendszerben előállított, önszerveződő B19 parvovírus kapszidok antigén és immunogén szempontból hasonlóak a natív virionokhoz, Proc Natl Acad Sci USA, 1991
13. KERR S, et al.: A nem denaturált Parvovirus B19 antigének elengedhetetlenek a Parvovirus B19 IgG pontos kimutatásához, J Med Virol, 1999
14. MANARESI, E et al.: IgG immune response to Parvovirus B19 VP1 and VP2 linear epitopes by immunoblot assay, J Med Virol, 1999
15. MANARESI, E et al.: Differenciált IgM-válasz a Parvovirus B19 VP1 és VP2 szerkezeti fehérjék konformációs és lineáris epitópjaira, J Med Virol, 2001
16. Mitchell LA, et al.: Lymphocyte recognition of human Parvovirus B19 non structural (NS1) protein: association with occurrence of acute and chronic arthropaty?, J Med Microbiol, 2001
17. MODROW S, et al.: Antibody responses in parvovirus B19 infected patients, Pathol Biol Vol, 2002
18. MODROW S, et al.: Parvovírus B19 fertőzés terhesség alatt, Dtsch Arzteblatt, 2006
19. ROS, C et al.: A natív humán parvovírus B19 VP1-egyedi régiójának konformációs változásai olyan belső szekvenciák expozíciójához vezetnek, amelyek szerepet játszanak a vírus semlegesítésében és fertőzőképességében, J Virol, 2006
20. SEARLE K, et al.: Development of antibodies to the nonstructural protein NS1 of Parvovirus B19 during acute symptomatic and subclinical infection in pregnancy: implication for pathogenesis doubtful, J Med Virol, 1998
21. SÖDERLUND M, et al.: Prokaryotic Expression of a VP1 Polypeptide Antigen for Diagnosis by a Human Parvovirus B19 Antibody Enzyme Immunoassay, J Clin Microbiol, 1992
22. SÖDERLUND M, et al.: Epitóp típus-specifikus IgG válaszok a humán Parvovirus B19 VP1 és VP2 kapszid fehérjéire, J Infect Dis, 1995
23. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
24. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
25. VENTUROLI, S et al: IgG response to the immunoreactive region of parvovirus B19 nonstructural protein by immunoblot assay with a recombinant antigen, J infect Dis, 1998
26. VON POBLOTZKI, A et al.: Antibodies to Parvovirus B19 NS1 protein in infected individuals, J Gen Virol, 1995
27. YOUNG, NS et al.: Parvovírus B19, New Engl J Med, 2004

Szimbólumok magyarázata

	Gyártó		Rendelési szám
	Használati utasítást figyelembe venni		Felhasználható / Legjobb minőségű felhasználhatósági idő
	*In vitro* diagnosztikai eszköz		Hőmérsékletkorlátozás (tárolás)
	Tétel száma		Pozitív kontrollszérum
	96 adaghoz elegendő		Negatív kontrollszérum

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

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