

CMV ViraChip® IgG Test Kit

Gebrauchsanweisung

0483 

Zweckbestimmung:

Der Viramed® **CMV ViraChip® IgG** ist ein qualitativer, nicht-automatischer in-vitro Immunoassay zum Nachweis von IgG Antikörpern gegen CMV (Cytomegalovirus, Humanes betaherpesvirus 5, HHV-5) in Probenmatrices humanem Serum und Plasma (Antikoagulantien Natriumcitrat, Lithium-Heparin, K2 EDTA). Der CMV ViraChip® IgG Test Kit wird von der Viramed® Biotech AG, Behringstr.11, 82152 Planegg hergestellt. Der Test ist nur durchzuführen von Fachpersonal, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde. Nicht für Laien-Anwender.

Mittels des Viramed® CMV ViraChip® IgG Tests können Proben, die in einem Screening-/Suchtest für CMV Antikörper positiv oder grenzwertig reagieren, bestätigt werden, der Test kann aber auch jederzeit nach Symptombeginn bzw. im weiteren Erkrankungs- bzw. Therapie-Verlauf eingesetzt werden. Der Test dient als Hilfsmittel zur Bestimmung des Infektionsstatus generell und bei der Diagnose im Pränatal Screening von schwangeren Frauen um deren Immun- / Antikörper-Status zu detektieren.

Dieser Test dient nur als Hilfsmittel zur Diagnose. Der Test soll keine umfassenden Bewertungen und Behandlungsstrategien ersetzen. Der Test ist nicht als Screeningmethode im Bereich Transfusion, Transplantation oder Zellübertragung geeignet. Das Testergebnis ist in der Zusammenschau mit Symptomen, Patientenhistorie, anderen klinischen Befunden und Testergebnissen zu sehen, z.B. Isolation des Virus / Zellkultur, Antigennachweis, NAT/PCR, IgM anti-CMV Antikörper, neutralisierende Antikörper und andere serologische und nicht-serologische Testergebnisse bezogen auf aktuelle Leitlinien und diagnostischen Empfehlungen.

Positive oder grenzwertige Testergebnisse zeigen messbare Antikörpertiter an; sie geben einen Hinweis auf eine Exposition gegenüber CMV sind als Symptom zu werten. Rückschlüsse auf eine Infektion, den Infektions- bzw. Immunstatus sind nur bedingt möglich. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.

Testprinzip

Am Boden jeder Kavität der 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) des ViraChip® Test Kits befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der Antigene als Analytspots fixiert sind (Microarray).

Zum Antikörpernachweis wird zunächst jeweils eine verdünnte Probe in je eine ViraChip® Kavität gegeben und inkubiert. Wenn entsprechende Antikörper in der Probe vorhanden sind, binden diese unter Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen an die fixierten Analytspots.

Nach mehrmaligem Waschen erfolgt die Zugabe von mit Alkalischer Phosphatase gekoppeltem anti-Human-IgG-Konjugat und eine anschließende Inkubation. Während dieser Inkubation bindet das Konjugat an vorhandene Antigen-Antikörper-Komplexe.

Nach erneutem Waschen und Zugabe der Chromogen / Substratlösung setzt die in den Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexen befindliche Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit die Analytspots auf dem Microarray lila bis schwarz an. Nach weiteren Wasch- und Trocknungsschritten werden die Analytspot-Intensitäten gemessen und mittels ViraChip® Software ausgewertet.

Jeder Microarray beinhaltet neben den Analytspots folgende Kontrollspots: **Serumkontrollen, Konjugatkontrollen, Kalibratorkontrollen** und eine **Negativkontrolle**. Die Analytspots dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen die CMV-spezifischen Antigene **IE1, p52, p150-1, p150-7, p150-XP1, p28, p65** und **gB**.

Zur Kennzeichnung sind die Kavitäten der Mikrotiterplatte farblich kodiert:

Dazu ist der CMV ViraChip® IgG durch einen **hellblauen Vollkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	V-CMCGOK	Best.-Nr.:	V-CMCGDK (Deca Kit)
Packungsgröße:	1 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten	Packungsgröße:	10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten
Probenmaterial:	10 µl Patientenprobe	Probenmaterial:	10 µl Patientenprobe
Testdauer:	ca. 130 Minuten	Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten	CMV ViraChip® IgG Antigen Coated Wells	(Prod.-Nr.: V-CMCGAC)
1x bzw. 10x 12 ml	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
	ViraChip® AP-Anti-Human IgG Conjugate	(Best.-Nr.: V-UVCGKI)
	Anti-human IgG Konjugatlösung für ViraChip® Tests, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig	
1x bzw. 10x 100 ml	ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer	(Best.-Nr.: V-UVNUWP)
	Waschpuffer-Konzentrat für ViraChip® Tests, mit Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, 10-fach	
1x bzw. 10x 12 ml	ViraChip® Chromogen / Substrate Solution	(Best.-Nr.: V-UVCUCS)
	Chromogen/Substratlösung für ViraChip® Tests, mit BCIP / NBT, gebrauchsfertig	
1x bzw. 10x 50 ml	ViraChip® Sample Buffer	(Best.-Nr.: V-UVCUPP)
	Probenpuffer für ViraChip® Tests, gebrauchsfertig	

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	CMV ViraChip® IgG Antigen Coated Wells (8)	(Best.-Nr.: V-CMCGRT)
	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
330 µl	CMV ViraChip® IgG Positive Control	(Best.-Nr.: V-CMCGPK)
	IgG positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	CMV ViraChip® IgG Weak Positive Control	(Best.-Nr.: V-CMCGWK)
	IgG schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	CMV ViraChip® IgG,A,M Negative Control	(Best.-Nr.: V-CMCPNK)
	IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	

Zusätzlich geforderte Ausrüstung und benötigtes Material

1. ViraChip Software®	zum Vorbereiten, Durchführen und Auswerten des Testlaufes, ab Version v1.3.0-1960	(Best.-Nr.: V-VCNUPR)
2. 2D-Barcode Scanner	zum Lesen der DataMatrix-Codes	

3116_CMV_ViraChip_IgG_AL_IVDR_de

1.1

© Copyright VIRAMED Biotech AG Januar 2025

Revision 2025 01 28

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 2 -

- | | | |
|---|--|---|
| 3. Mikrotiterplatte
mit 96 Leerkavitäten | zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen | (Best.-Nr.: V-UVNMTP) |
| 4. Orbitalschüttler (750 rpm)
oder Linearschüttler (20 Hz) | zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung | |
| 5. ViraChip® Scanner
oder ViraChip® Reader | zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Tests, ab ViraChip® Scanner ab Version v1.0 bzw. ViraChip® Reader ab Version Rev.03 | (Best.-Nr.: V-UVSCA)
(Best.-Nr.: V-UVCCAM) |
| 6. Optional: Ventilator/ Lüfter | zur schnelleren Trocknung der entwickelten Mikrotiterplatten | |

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

Alle Reagenzien und die verpackte Mikrotiterplatte vor Gebrauch auf Raumtemperatur (RT: 20-23°C) bringen. Alle Reagenzien vor Gebrauch gut durchmischen.

Waschpuffer: **Waschpuffer-Konzentrat 1:10 in destilliertem oder deionisiertem Wasser (H2O) verdünnen:**

100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H2O

Probenpuffer: Gebrauchsfertig

Konjugatlösung: Gebrauchsfertig

Chromogen / Substratlösung: Gebrauchsfertig

MTP-Kavitäten: Die Mikrotiterplatte (MTP) vorsichtig aus der Verpackung entnehmen und die benötigte Anzahl an Kavitäten in einen leeren Mikrotiterplattenrahmen stecken (Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes, Punkt 3). Nach Entnahme aus der Verpackung Kavitäten sofort verwenden. Nicht benötigte Kavitäten sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.

Patientenproben: Die Patientenproben werden in einer **1:76** Verdünnung eingesetzt, z.B. **10 µl Patientenprobe + 750 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Probe werden für die Prozessierung 100 µl pro Kavität benötigt.

Kontrollen: Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer **1:16** Verdünnung eingesetzt, z.B.: **10 µl Kontrollserum + 150 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Kontrolle werden für die Prozessierung 100 µl pro Kavität eingesetzt.

Aufbau des CMV ViraChip® IgG Microarrays

Antigene:

Jedes CMV-spezifische Antigen, **IE1**, **p52**, **p150-1**, **p150-7**, **p150-XP1**, **p28**, **p65** und **gB**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Jedes Spottriplett entspricht einer Bande im Immunoblot.

Kontrollen:

Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:

Zwei Serumkontrollen (sc), eine Negativkontrolle (nc), zwei IgG Konjugatkontrollen (ccG), zwei IgM Konjugatkontrollen (ccM) und sechs Kalibratorkontrollen (cal).

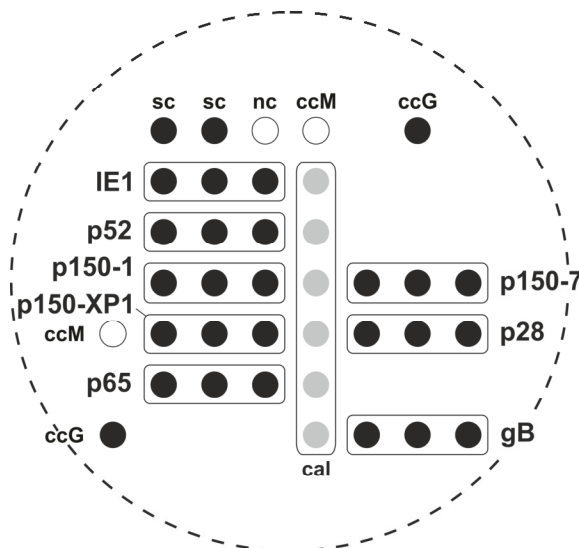


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem CMV ViraChip® IgG Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der CMV Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:

Antigen:

Bemerkung:

IE1

Immediate-Early Protein 1, Nicht-Strukturprotein, pUL123

Die immediate early Proteine IE1 und IE2 sind die ersten viralen Genprodukte, die nach der Infektion in den Wirtszellen gebildet werden (7).

p52

Nicht-Strukturprotein, pUL44, CM2

DNA Polymerase Prozessivitätsfaktor – ein wesentlicher Bestandteil des Replikationskomplexes (10)

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 3 -

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkung:
p150-1	Tegumentprotein, pUL32, Fragment 1	Großes phosphoryliertes Strukturprotein (8,13), CMV spezifisches Strukturprotein ohne homologe Gegenstücke in anderen Herpesviren (13)
p150-7	Tegumentprotein, pUL32, Fragment 7	Großes phosphoryliertes Strukturprotein (8,13)
p150-XP1	Tegumentprotein, pUL32, Fragment XP1	Großes phosphoryliertes Strukturprotein (8,13)
p28	Tegumentprotein, pUL99	Myristoyliertes, phosphoryliertes Strukturprotein (14)
p65	Tegumentprotein, pUL83	Phosphoryliertes Strukturprotein (10)
gB	Glykoprotein B, pUL55	Transmembranprotein Typ 1 (3), Sequenzidentität mit HSV-1: 24,2% bzw. mit EBV: 30,2% (1)

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 4 -

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Die Prozessierung von Proben auf ViraChip® Antigen Coated Wells kann mit folgenden Pipettierrobotern / ELISA-Prozessoren automatisiert werden: GEMINI, BEP2000, ETI-MAX3000, SERION Immunomat, Euroanalyzer I, Euroanalyzer I-2P, EVOLIS, EVOLIS Twin-Plus, ThunderBolt ELISA, ThunderBolt ELISA + CLIA, DS2, DSX, Agility, Agility Integra. Eine detaillierte Schritt-für-Schritt Anleitung für die verwendete Automationslösung sowie eine Anleitung für die Benutzung der ViraChip® Software wird bei der Einrichtung der Geräte und Schulung durch die Viramed Biotech AG zur Verfügung gestellt. Einzelheiten sind im Abschnitt „Hinweise zu Geräten und Software“ beschrieben.

Die im Folgenden aufgeführte Arbeitsvorschrift gilt für manuelle Prozessierung mit separaten, generischen Laborgeräten wie Pipetten, Schüttler und ELISA-Washer und muss exakt eingehalten werden.

1. Belegen

Testauswahl und Eintrag der Probanden in den Belegungsplan der ViraChip® Software.

2. Bestücken

Scannen der 2D-Barcodes auf den Etiketten des Test Kits und der Mikrotiterplatte, zur Übertragung der Chargennummern und der chargen-spezifischen Faktoren (lot specific factors).

3. Prozessieren

Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.

3.1 Vorbereitung

- Die gemäß der Belegung definierte Anzahl an Kavitäten in den Halterahmen setzen.
- Leere Positionen eines Riegels der Mikrotiterplatte im Halterahmen mit Leerkavitäten auffüllen. Die Riegel sind auf der Mikrotiterplatte mit 1-12 gekennzeichnet.

Darauf achten, dass beim Brechen der Riegel keine Kunststoffpartikel in die Kavitäten fallen.

3.2 Vorinkubation

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.3 Probeninkubation

- Gemäß dem Belegungsplan 100 µl verdünnte Patientenprobe bzw. 100 µl verdünntes Kontrollserum der entsprechenden Kavität zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.4 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

Absaugnadeln so einstellen bzw. Pipetten so verwenden, dass die Kavitätenböden nicht beschädigt werden.

3.5 Konjugatinkubation

- Je Kavität 100 µl Konjugatlösung zugeben.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

Die Kavitätenböden müssen während der Inkubationsschritte vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

3.6 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

Während der Inkubations- und Waschschrte einen Orbitalschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 750 rpm, oder einen Linearschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 20 Hz, verwenden.

3.7 1 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- 1 Minute bei RT inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.8 Substratinkubation

- Je Kavität 100 µl Chromogen/Substratlösung zugeben.
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Stoppen: Flüssigkeit absaugen.

3.9 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- Keine Zwischeninkubation.
- Flüssigkeit absaugen.

3.10 Kavitäten trocknen

20 Minuten bei maximal 60% Luftfeuchtigkeit unter kontinuierlichem Luftstrom trocknen lassen.

Bei höherer Luftfeuchtigkeit kann sich die Trockenzeit verlängern. Alternativ 12 Stunden lichtgeschützt bei RT trocknen lassen.

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 5 -

4. Scannen

ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

Messungen der ViraChip® Microarrays sind innerhalb von 24 Stunden nach Prozessierung durchzuführen (Mikrotiterplatte lichtgeschützt aufbewahren). Die genaue Durchführung bitte dem Geräte-Handbuch entnehmen.

5. Analysieren

5.1 Zuordnung der Antigen-Spottriplets und der Kontrollspots überprüfen (Technisch validieren)

Jeder Spot wird aufgrund seiner Position von der ViraChip® Software automatisch dem entsprechenden Antigen-Spottriplett bzw. dem entsprechenden Kontrollspot zugeordnet.

Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster entsprechend Abb. 1 überprüft werden. Zuordnungen, die nicht dem dargestellten Muster entsprechen im Feld „QC“ auf „nicht gültig“ setzen. Die entsprechende Probe muss wiederholt werden.

5.2 Gültigkeitsprüfung

Die Gültigkeitsprüfung wird von der ViraChip® Software automatisch durchgeführt.

Ein ViraChip® Microarray ist gültig, wenn folgende Kontrollspots die in der ViraChip® Software hinterlegten Kriterien erfüllen:

- **Serumkontrollen** (sc) über Grenzwert
- **Konjugatkontrollen IgG** (ccG) über Grenzwert
Die Konjugatkontrollen IgG müssen stärker reagieren als die Kontrollen der anderen Konjugatklassen.
- **Kalibratorkontrollen** (cal) über Grenzwert
- **Negativkontrolle** (nc) unter Grenzwert

Falls eines der genannten Kriterien nicht erfüllt ist, wird der ViraChip® Microarray als „nicht gültig“ klassifiziert.

Nicht gültige ViraChip® Microarrays dürfen nicht ausgewertet werden und müssen wiederholt werden.

Negativkontrolle: Der Befund der Negativkontrolle muss negativ sein.

Positivkontrolle: Der Befund der Positivkontrolle muss positiv sein.

Schwach Positivkontrolle: Der Befund der Schwach Positivkontrolle muss positiv sein.

Die **CMV ViraChip® IgG,A,M Negative Control** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt werden.

Die **CMV ViraChip® IgG Positive Control** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt werden.

Die **CMV ViraChip® IgG Weak Positive** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt werden.

5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays

Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Die ViraChip® Einheiten jedes Spottriplets werden unter Berücksichtigung der chargen-spezifischen Faktoren relativ zu den Kalibratorkontrollen durch die ViraChip® Software berechnet.

Auswertekriterien

ViraChip®-Einheiten der Spottriplets	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens drei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: IE1, p52, p150-1, p150-7, p150-XP1, p28, p65 oder gB	Positiv	Spezifische IgG Antikörper gegen CMV nachweisbar. Eine CMV Infektion ist wahrscheinlich. Bei Verdacht auf eine frische Infektion zusätzlich auf IgM-spezifische Antikörper untersuchen.
Höchstens zwei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen IgG Antikörpern gegen CMV nachweisbar. Bei Verdacht auf eine frische Infektion zusätzlich auf IgM-spezifische Antikörper untersuchen und nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.

Diagnostische Bedeutung von CMV Antikörpern

1. IgG Antikörper sind bei einer Primärinfektion nach wenigen Wochen nachweisbar (9). Der Nachweis einer IgG Serokonversion gilt als Beweis einer Primärinfektion (12). Anti-gB IgG Antikörper sind frühestens etwa drei Monate nach Serokonversion nachweisbar (12). Bei zurückliegender, rekurrerender CMV-Infektion werden meist sofort positive Anti-CMV gB IgG Antikörper nachgewiesen, jedoch zeigen ca. 18% der CMV Seropositiven bei länger zurückliegender Infektion keine anti-gB IgG-Reaktivität (12,2).

2. IgM Antikörper treten etwa 2-3 Wochen nach einer Primärinfektion erstmals auf (9). Die Titer sinken in der Regel einige Wochen bis Monate nach Infektion ab, können jedoch bis zu 12 Monaten persistieren (10,9,12,2). Spezifische CMV IgM Antikörper können sowohl bei Rekurrenz als auch bei Koinfektion mit Epstein-Barr-Virus oder Parvovirus B19 und bei Autoimmunerkrankungen nachgewiesen werden (12, 5). Der alleinige Nachweis von anti-CMV IgM-Antikörpern reicht daher nicht aus, um eine Primärinfektion zu bestätigen (12,2).

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 6 -

3. Kreuzreaktionen mit CMV-Antigenen, insbesondere bei der Bestimmung von IgM Antikörpern, sind bei Infektionen mit Epstein-Barr-Virus (12) oder Parvovirus B19 als auch bei Autoimmunerkrankungen (12,5) beschrieben.

Leistungsdaten

Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden Seren von Patienten mit erwarteter positiver Reaktivität mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht. Alle diese Proben waren in mindestens zwei Vergleichstesten (CLIA, Immunoblot) positiv.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Positiv (n = 132)	>99% (132)

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität wurden Seren mit positiver Reaktivität in einem Referenztest mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht.

Kollektiv (CLIA IgG positiv)	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Positiv (n = 35)	>99% (35)

Kollektiv (Immunoblot IgG positiv)	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Positiv (n = 33)	97% (32)

Zur Bestimmung der klinischen Sensitivität wurden Seren von Patienten mit erwarteter positiver Reaktivität mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Positiv (n = 322)	96,3% (310)

Spezifität

Zur Bestimmung der diagnostischen Spezifität wurden Seren von Patienten mit erwarteter negativer Reaktivität mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht. Alle diese Proben waren in Vergleichstesten (CLIA, ELISA) negativ.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgG negativ, % (n)
Negativ (n = 171)	>99 % (171)

Prävalenz

Zur Bestimmung der Prävalenz wurden Seren von Blutspendern aus Deutschland mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Seren von deutschen Blutspendern (n = 142)	23,9% (34) *)

*) Bezogen auf das Vorhandensein von anti-CMV IgG Antikörpern in Deutschland wurde in einer Referenzstudie gezeigt, dass die Seroprävalenz in der Gesamtbevölkerung 46% beträgt, jedoch stark von Faktoren wie Alter und sozioökonomischen Faktoren abhängig ist (11, 6, 4)

Zur Bestimmung der Prävalenz bei Schwangeren wurden Seren von Schwangeren mit dem CMV ViraChip® IgG untersucht.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgG positiv, % (n)
Seren von deutschen Schwangeren (n = 29)	48,3% (14) *)
Seren von amerikanischen Schwangeren (n = 128)	60,9% (78) **)

*) Bezogen auf das Vorhandensein von anti-CMV IgG Antikörpern in Deutschland liegt die Seroprävalenz bei Schwangeren bei ca. 47% (11).

**) In den USA wurde in einer Referenzstudie eine Prävalenz von 58,9% angegeben (15).

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 7 -

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit CMV-Antigenen ist beschrieben bei Proben von Infektionen mit Epstein Barr Virus (EBV) oder Parvovirus B19 und ebenso für Autoimmunerkrankungen durch Auslösen einer polyklonalen B-Zell-Aktivierung und unspezifischen Immunantwort. Aufgrunddessen müssen die CMV IgG Ergebnisse in der Zusammenschau mit Symptomen, Patientenhistorie, anderen klinischen Befunden und Testergebnissen sowie der Testung von Nachfolgeproben interpretiert werden, um Fehldiagnosen zu vermeiden. 80 Proben, die Antikörper gegen andere Infektionsparameter oder Autoimmunantikörper haben bzw. potentiell kreuzreaktiv sind gegen das jeweilige Pathogen oder aufgrund von Antigenhomologien oder ähnlicher Symptomatik oder differentialdiagnostisch relevant sind, wurden mit dem CMV ViraChip IgG getestet.

CMV ViraChip IgG

Proben	negativ	positiv	Gesamtanzahl	% Positivität
Autoimmun	3	7	10	(7/10) 70%
Zöliakie	7	3	10	(3/10) 30%
EBV	8	2	10	(2/10) 20%
HSV	2	8	10	(8/10) 80%
Influenza	3	7	10	(7/10) 70%
Parvovirus	5	5	10	(5/10) 50%
Rubella	8	2	10	(2/10) 20%
VZV	6	4	10	(4/10) 40%
Gesamtanzahl	42	38	80	(38/80) 47,5%

Von insgesamt 80 potentiellen Kreuzreaktivitätsproben reagierten 47,5% (38/80) positiv mit dem CMV ViraChip IgG. Aufgrund der hohen Seroprävalenz ist zu erwarten, dass ein erheblicher Anteil dieser Kreuzreaktivitätsproben tatsächlich auch anti-CMV Antikörper enthält und somit richtig positiv mit dem CMV ViraChip IgG reagiert. Die Positivrate von 47,4% kann nicht signifikant unterschieden werden von dem oben gezeigten Seroprävalenzbereich aus Blutspendern (23,9%), deutschen Schwangeren (48,3%) und US-amerikanischen Schwangeren (60,9%). Kreuzreaktionen mit CMV-Antigenen können aber nicht ausgeschlossen werden.

Probenmatrix

Proben aus verschiedenen Matrices / Antikoagulanzen (Serum, Plasma Natriumcitrat, Plasma Lithiumheparin, Plasma K2 EDTA) desselben Patienten wurden mit dem CMV ViraChip IgG getestet. Die Proben wurden mit einer CMV IgG-positiven Referenzprobe gespiked, so dass die Endkonzentration der Probenverdünnung final 1:76 war. Alle getesteten Proben der verschiedenen Matrices / Antikoagulanzen (Serum, Plasma Natriumcitrat, Plasma Lithiumheparin, Plasma K2 EDTA) zeigten denselben Positivbefund wie die CMV IgG-positiven Referenzprobe (100% Übereinstimmung).

Interferenz

13 Proben, die auf Rheumafaktor (IgG/IgA or IgM) positive gescreent waren, wurden mit dem CMV ViraChip IgG untersucht.

CMV ViraChip IgG

Panel	negativ	positiv	Gesamtanzahl	% Positivität
Rheumafaktor IgG/IgA oder IgM-pos.	3	10	13	(10/13) 76,9%

In Rheumafaktor IgG/IgA oder IgM-positiven Proben liegt die Positivität im CMV ViraChip IgG bei 79,9%. Aufgrund der hohen Seroprävalenz ist zu erwarten, dass ein erheblicher Anteil dieser Rheumafaktorproben tatsächlich auch anti-CMV Antikörper enthält und somit richtig positiv mit dem CMV ViraChip IgG reagiert.

Zusätzlich wurden Proben wurden mit verschiedenen Interferenzen (Rheumafaktor (RF), hämolytisch, ikterisch, lipämisch) auf dem CMV ViraChip IgG getestet. Die Proben wurden mit einer CMV IgG-positiven Referenzprobe gespiked, so dass die Endkonzentration der Probenverdünnung der Standard 1:76-Konzentration entsprach. Alle getesteten Interferenzproben zeigten denselben Positivbefund wie die CMV IgG-positiven Referenzprobe (100% Übereinstimmung). Siehe Einschränkung des Verfahrens.

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 8 -

Messbereich

Der PEI-Standard wurde in verschiedenen Verdünnungsstufen auf dem CMV ViraChip IgG getestet.

PEI Std. - Konzentration	CMV ViraChip IgG								Befund
	IE1	p52	p150-1	p150-XP1	p65	p150-7	p28	gB	
110U/ml	1	1	1	1	1	1	1	1	positiv
55U/ml	1	1	1	1	1	1	1	1	positiv
27,5U/ml	1	1	1	1	1	1	1	1	positiv
13,8U/ml	1	1	1	1	1	1	1	1	positiv
6,9U/ml	1	1	1	1	1	1	1	1	positiv
3,4U/ml	1	1	1	1	1	1	1	0	positiv
1,7U/ml	1	0	1	1	0	1	1	0	positiv
0,9U/ml	0	0	1	1	0	1	1	0	positiv
0,4U/ml	0	0	1	1	0	1	1	0	positiv
0,2U/ml	0	0	1	0	0	0	0	0	negativ
0,1U/ml	0	0	0	0	0	0	0	0	negativ

Der PEI-Standard ist bis zu einer Konzentration von 0,4U/ml positiv im CMV ViraChip IgG.

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 9 -

Reproduzierbarkeit

Unter Verwendung einer Produktionslot wurde der CMV ViraChip IgG an fünf unterschiedlichen Tagen prozessiert. Jede Probe wurde in jedem Lauf dreimal reproduziert von jeweils zwei Personen / Operatoren. Insgesamt wurde jede Probe 30 mal prozessiert. Die verwendeten Proben wurden aufgrund eines Referenztests als negative, schwach, mittel oder stark positive charakterisiert, so dass diese dem vollen Antikörpertiterspektrum / Messbereichs eines CMV ELISA-Tests entsprechen. Die Ergebnisse wurden mittels Klassifizierung verglichen, die Prozent der Reproduzierbarkeit sind dargestellt.

CMV ViraChip IgG									
ID	IE1	p52	p150-1	p150-XP1	p65	p150-7	p28	gB	result
VM2820	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(26/30)* 86,7%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM2821	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM2833	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM2870	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM2874	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM2900	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
VM4685-05	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%	(30/30) 100%
all samples	(210/210) 100%	(210/210) 100%	(210/210) 100%	(210/210) 100%	(206/210) 98,1%	(210/210) 100%	(210/210) 100%	(210/210) 100%	(210/210) 100%
total	(1676/1680) 99,8%								(210/210) 100%

Reproduzierbarkeitsstudie. Viramed® Biotech AG CMV ViraChip® IgG Prozent der Reproduzierbarkeit im Testbefund = 100%.

Das Antigen p65 hat bei der Probe VM2820 eine höhere Variabilität.

Präzision / Wiederholgenauigkeit

Der CMV ViraChip IgG wurde mit denselben Proben in Triplikaten pro Lauf an einem Tag von einem Operator prozessiert. Die verwendeten Proben wurden aufgrund eines Referenztests als negative, schwach, mittel oder stark positive charakterisiert, so dass diese dem vollen Antikörpertiterspektrum / Messbereichs eines CMV ELISA-Tests entsprechen. Die Ergebnisse wurden mittels Klassifizierung verglichen, die Prozent der Wiederholbarkeit sind dargestellt.

ID	CMV ViraChip IgG								result
	IE1	p52	p150-1	p150-XP1	p65	p150-7	p28	gB	
VM2820	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2821	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2833	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2870	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2874	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2900	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4685-05	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
all samples	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%	(21/21) 100%
total	(168/168) 99,8%								(21/21) 100%

Präzisionsstudie. Viramed® Biotech AG CMV ViraChip® IgG Prozent der Wiederholgenauigkeit im Testbefund = 100%

Zur Bestimmung der Leistungsdaten wurde die ViraChip® Software 1.3.0 sowie der ViraChip® Scanner v1.0 und der ViraChip® Reader Rev.03 oder höhere Versionen verwendet.

Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausstattung (z.B. nach GLP) und die ggf. erforderlichen behördlichen Genehmigungen zum Umgang mit den zu testenden Proben besitzt.
2. Dieser Test ist nur von Fachpersonal durchzuführen, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
3. Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice (GLP)“ eingehalten werden.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. **ViraChip® Microarrays:** Verschluss in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
2. **Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
3. **Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar.
4. **Probenpuffer:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 10T.
5. **Konjugatlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 10T.
6. **Chromogen/Substratlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 24Mon. Vor Lichteinfall schützen!

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

1. Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBs-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen / internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.
2. Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Maßnahmen sind unter anderem:
 - Nicht mit dem Mund pipettieren.
 - Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
 - Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.
3. Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Laborrichtlinien zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.
4. Angaben über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie sind in den Sicherheitsdatenblättern dokumentiert.
5. Der Eintritt von Staub und anderen Verschmutzungen in die Kavitäten der MTP ist zu vermeiden, da daraus ungültige Ergebnisse resultieren können.
6. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und / oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

1. Der **CMV ViraChip® IgG Test Kit** ist mit den Probenmatrices humanes Serum und Plasma (Anticoagulantien Natriumcitrat, Lithium-Heparin, K2 EDTA) als Probenmaterial durchzuführen.
2. Die Probengewinnung und Lagerung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards, Methoden und Bedingungen aus Vollblut erfolgen. Der Probentransport ist bei Raumtemperatur möglich (17; 18; 19; 20).
3. In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden.

4. Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.
5. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens

1. Ein positives Testergebnis der jeweiligen Patientenprobe ist als Symptom zu werten. Interpretation und Beurteilung von Testergebnissen dürfen nur durch medizinisches Fachpersonal unter Wertung aller relevanten Daten erfolgen (16).
2. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
3. Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen mit verschiedenen Testen bzw. mit verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.
4. Bei Immunsuppression, die u.a. aufgrund von HIV/AIDS oder Chemotherapie resultiert, gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit. Die CMV Antikörper-Testung kann möglicherweise nicht dem vollständigen aktuellen Infektionsstatus entsprechen (16).
5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (16).
6. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.

7. Präzises Befolgen der Arbeitsvorschrift ist essentiell für exakte Testergebnisse. Abweichendes Prozessieren wie z.B. ungenügendes Durchführen der Waschschrte kann falsche Ergebnisse verursachen.
8. Der Ansatz von „Poolproben“, bei denen mehrere Seren gemeinsam untersucht werden, ist unzulässig, da bei derartigen Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität nicht gewährleistet sind.
9. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch, lipämisch oder Rheumafaktor-positiv sind, können zu ungültigen Ergebnissen führen.
10. Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein
11. Kreuzreaktionen mit CMV-Antigenen können nicht ausgeschlossen werden und sind bei Infektionen mit Epstein-Barr-Virus, Parvovirus B19 oder auch bei Autoimmunerkrankungen beschrieben. Da die Seroprävalenz von CMV hoch ist, können Proben von Erkrankten anderer Parameter durchaus auch CMV IgG-Antikörper enthalten.

Hinweise zu Geräten und Software

1. Bei automatisierter Durchführung müssen für den jeweiligen Prozessortyp von Viramed Biotech AG validierte Arbeitsschritte programmiert und verwendet werden.
2. Bei Verwendung von prozessorspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die entsprechenden Konfigurationen nach Herstellerangaben von Viramed Biotech AG freizugeben.
3. Die von Viramed Biotech AG bereitgestellte Geräte- und Softwarekonfiguration darf nicht verändert werden. Jegliche Änderung kann falsche Ergebnisse verursachen.

4. Es ist ausschließlich gerätespezifische Software zu verwenden. Änderungen an Konfigurationsdateien dürfen nur von Viramed Biotech AG durchgeführt werden.
5. Als Messgeräte sind nur von Viramed Biotech AG zugelassene Systeme zu verwenden.
6. Die Auswertung der ViraChip® Microarrays erfolgt ausschließlich über die ViraChip® Software. Eine manuelle/visuelle Auswertung ist nicht möglich.

Literatur

1. BURKE, HG & HELDWEIN, EE: Crystal Structure of the Human Cytomegalovirus Glycoprotein B, PLoS Path, 2015
2. HAMPRECHT, K: Stolpersteine in der pränatalen HCMV-Diagnostik - Stellenwert von IgM und IgG-Avidität, Diagnostik im Dialog, 2017
3. KINZLER, ER & COMPTON, T: Characterization of human cytomegalovirus glycoprotein-induced cell-cell fusion, J Virol, 2005
4. LACHMANN, R et al.: Cytomegalovirus (CMV) seroprevalence in the adult population of Germany, PLoS One, 2018
5. LAZZAROTTO, T et al.: Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy, Clin Microbiol Infect, 2011
6. ABELE-HORN, M et al.: MiQ 11b: Genitalinfektionen Teil II, Elsevier Urban & Fischer, 2011
7. PAULUS, C & NEVELS, M: The Human Cytomegalovirus Major Immediate-Early Proteins as Antagonists of Intrinsic and Innate Antiviral Host Responses, Viruses, 2009
8. PLACHTER, B et al.: Procaryotic expression of phosphorylated tegument protein pp65 of human cytomegalovirus and application of recombinant peptides for immunoblot analyses, J Clin Microbiol, 1990
9. PRINCE, HE & LAPÉ-NIXON, M: Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy, Clinical and Vaccine Immunology, 2014
10. REVELLO, MG & GERNA, G: Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant, Clin Microbiol Rev, 2002
11. RKI Robert Koch Institut: RKI-Ratgeber für Ärzte: Zytomegalievirus-Infektion, Epidemiologisches Bulletin Nr 3, 2014
12. HAMPRECHT, K: Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, S2K Leitlinie, AWMF Registernummer 0093/001, AWMF, 2014
13. SCHOLL, BC et al.: Prokaryotic expression of immunogenic polypeptides of the large phosphoprotein(pp150) of human cytomegalovirus, J Gen Virol, 1988
14. SILVA, MC et al.: Human cytomegalovirus UL99-encoded pp28 is required for the cytoplasmic envelopment of tegument-associated capsids, J Virol, 2003
15. STARAS, SAS et al.: Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988-1994, Clin Infect Dis, 2006
16. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
17. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
18. Richtlinie 2008/68/EG: Über die Beförderung gefährlicher Güter im Binnenland, akt. Vers.
19. RKI: Präanalytikhandbücher, akt. Vers.
20. AWMF S2k-Leitlinie 093/001: Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, 2021

CMV ViraChip® IgG Test Kit

- 12 -

Hersteller



Viramed® Biotech AG
Behringstr.11
82152 Planegg
Deutschland

Sonstige Angaben

Überarbeitungsgrund

Überarbeitung für IVDR

IVDR (Artikel 29) Kurzbericht über Sicherheit und Leistung ist hier zu finden: EUDAMED - öffentliche Datenbank - Search for UDI-DI and device data including SS(C)P.

Symbolerklärungen

	Hersteller		Bestell-Nummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
	In-Vitro Diagnostikum		Temperaturbegrenzung (Lagerung)
	Chargen-Nummer		Positives Kontrollserum
	Ausreichend für 96 Ansätze		Negatives Kontrollserum