

Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit

Stripe-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische **Parvovirus B19** Antigene in humanem Serum. Zusammen mit dem **Parvovirus B19 ViraStripe® IgG Test Kit** gibt das Testergebnis Hinweise auf die jeweilige Infektionsphase, durch Differenzierung von akuten, kürzlich und lange zurückliegenden Infektionen, und auf den möglichen Infektionszeitpunkt.

Der **Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Line/Stripe Format, bei dem folgende aufgereinigte Parvovirus B19-spezifische Antigene verwendet werden: **VP1, VP1-N, VP2★, VP2** und **VP2-Cs**. Die Antigene **VP1, VP1-N, VP2** und **VP2-Cs** liegen in denaturierter Proteinstruktur vor und weisen lineare Epitope auf. Die löslichen, Virus-ähnlichen Kapsidpartikel des **VP2★** Antigens präsentieren Konformationsepitope (★) (1,2,3,4,5,6).

Testprinzip

Parvovirus B19-spezifische IgM Antikörper binden während der Seruminkubation an das fixierte Antigen auf dem Teststreifen. Während der Konjugatreaktion bindet das AP-Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Die Alkalische Phosphatase setzt das Chromogen/Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Teststreifen lila an. Die Waschschriffe nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen/Substrat-Inkubation entfernen ungebundene Antikörper und Reagenzien.

Die grüne Trennlinie teilt den Teststreifen in einen Kontrollabschnitt und einen Analytabschnitt. Im Kontrollabschnitt befinden sich die **Negativkontrollbände**, die **Serumkontrolle**, **drei Konjugatkontrollen** (IgG, IgA, IgM) und die **Cut off Kontrolle**.

Der Teststreifencode für die Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Teststreifen ist **RM**. Die Teststreifen sind von **01** bis **25** nummeriert. Im Analytabschnitt befinden sich die Parvovirus B19-spezifischen Antigene.

Best.-Nr.:	V-PVSMKS	Best.-Nr.:	V-PVSMXK (Penta Kit)
Packungsgröße:	1x 25 Teststreifen	Packungsgröße:	10x 25 Teststreifen
Probenmaterial:	20 µl Serum	Probenmaterial:	20 µl Serum
Testdauer:	ca. 90 Minuten	Testdauer:	ca. 90 Minuten

Kitinhalt

1x bzw. 10x 25 Teststreifen	Parvovirus B19 ViraStripe® Antigen Strips (IgM) Teststreifen mit Kontrollabschnitt und Parvovirus B19-spezifischen Antigenen im Analytabschnitt, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-PVSMAS)
1x bzw. 10x 4,5 ml	ViraStripe® / ViraBlot® AP-Anti-Human IgM Conjugate Konjugat-Konzentrat, Ziege	(Best.-Nr.: V-UVNMKI45)
1x bzw. 10x 100 ml	ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach	(Best.-Nr.: V-UVNUWP)
1x bzw. 10x 5 g	ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Powder Proben-/Waschpuffersalz	(Best.-Nr.: V-UVNUMP)
1x bzw. 10x 90 ml	ViraStripe® / ViraBlot® Chromogen / Substrate Solution Chromogen/Substratlösung, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVNUCS)
1 bzw. 10 Exemplare	Auswerteprotokoll Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit	

Zusätzlich separat lieferbar

330 µl	Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Positive Control IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVSMPPK)
330 µl	Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Weak Positive Control IgM schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVSMWPK)
330 µl	Parvovirus B19 ViraStripe® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVSPNK)
50 Exemplare	Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Auswerteprotokolle für die automatisierte Auswertung mit der ViraScan® Software	(Best.-Nr.: V-PVSMPEP)

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen. Informationen zur Haltbarkeit finden Sie auf Seite 6.

Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: **Proben-/Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen (100 ml Konzentrat + 900 ml Wasser). Anschließend Proben-/Waschpuffersalz komplett zugeben und solange mischen, bis sich das Pulver vollständig aufgelöst hat. Eventuell 10-15 Minuten auf einen Magnetrührer stellen. Der pH-Wert sollte um pH 7,5 bei 20°C liegen.

Teststreifen: Benötigte Teststreifen vorsichtig mit der **Pinzette** an der **Beschriftung** fassen, vom Steg lösen und in die vorbereitete Inkubationswanne legen (Arbeitsvorschrift Punkt 2). Nach Entnahme aus der Verpackung sofort verwenden. Teststreifen nicht mit den Fingern berühren. Nicht benötigte Teststreifen sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.

Patientenproben: Pro Ansatz werden **20 µl Patientenserum** unverdünnt eingesetzt.

Kontrollen: Pro Ansatz werden je **100 µl des positiven Kontrollserums** sowie des **negativen Kontrollserums** unverdünnt eingesetzt.

Konjugat-Gebrauchsverdünnung: **Konjugat-Konzentrat 1:10** mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen (siehe Tabelle 1). Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.

Chromogen/Substratlösung: Gebrauchsfertig.

Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit

- 2 -

Herstellung der Konjugat-Gebrauchsverdünnung IgM

Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen	Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen		
1	1,35 ml	+	0,15 ml	1,5 ml	26	35,10 ml	+	3,90 ml	39,0 ml
2	2,70 ml	+	0,30 ml	3,0 ml	27	36,45 ml	+	4,05 ml	40,5 ml
3	4,05 ml	+	0,45 ml	4,5 ml	28	37,80 ml	+	4,20 ml	42,0 ml
4	5,40 ml	+	0,60 ml	6,0 ml	29	39,15 ml	+	4,35 ml	43,5 ml
5	6,75 ml	+	0,75 ml	7,5 ml	30	40,50 ml	+	4,50 ml	45,0 ml
6	8,10 ml	+	0,90 ml	9,0 ml	31	41,85 ml	+	4,65 ml	46,5 ml
7	9,45 ml	+	1,05 ml	10,5 ml	32	43,20 ml	+	4,80 ml	48,0 ml
8	10,80 ml	+	1,20 ml	12,0 ml	33	44,55 ml	+	4,95 ml	49,5 ml
9	12,15 ml	+	1,35 ml	13,5 ml	34	45,90 ml	+	5,10 ml	51,0 ml
10	13,50 ml	+	1,50 ml	15,0 ml	35	47,25 ml	+	5,25 ml	52,5 ml
11	14,85 ml	+	1,65 ml	16,5 ml	36	48,60 ml	+	5,40 ml	54,0 ml
12	16,20 ml	+	1,80 ml	18,0 ml	37	49,95 ml	+	5,55 ml	55,5 ml
13	17,55 ml	+	1,95 ml	19,5 ml	38	51,30 ml	+	5,70 ml	57,0 ml
14	18,90 ml	+	2,10 ml	21,0 ml	39	52,65 ml	+	5,85 ml	58,5 ml
15	20,25 ml	+	2,25 ml	22,5 ml	40	54,00 ml	+	6,00 ml	60,0 ml
16	21,60 ml	+	2,40 ml	24,0 ml	41	55,35 ml	+	6,15 ml	61,5 ml
17	22,95 ml	+	2,55 ml	25,5 ml	42	56,70 ml	+	6,30 ml	63,0 ml
18	24,30 ml	+	2,70 ml	27,0 ml	43	58,05 ml	+	6,45 ml	64,5 ml
19	25,65 ml	+	2,85 ml	28,5 ml	44	59,40 ml	+	6,60 ml	66,0 ml
20	27,00 ml	+	3,00 ml	30,0 ml	45	60,75 ml	+	6,75 ml	67,5 ml
21	28,35 ml	+	3,15 ml	31,5 ml	46	62,10 ml	+	6,90 ml	69,0 ml
22	29,70 ml	+	3,30 ml	33,0 ml	47	63,45 ml	+	7,05 ml	70,5 ml
23	31,05 ml	+	3,45 ml	34,5 ml	48	64,80 ml	+	7,20 ml	72,0 ml
24	32,40 ml	+	3,60 ml	36,0 ml	49	66,15 ml	+	7,35 ml	73,5 ml
25	33,75 ml	+	3,75 ml	37,5 ml	50	67,50 ml	+	7,50 ml	75,0 ml

Tabelle 1: Konjugat-Konzentrat 1:10 mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen

Arbeitsvorschrift

- Inkubationswanne mit jeweils ca. 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung spülen, Puffer abgießen**
Inkubationswanne mit einem wasserunlöslichen Stift beschriften. Das Spülen entfernt Staubpartikel.
- Die gewünschte Anzahl an Teststreifen in die Inkubationswanne legen - ein Teststreifen pro Rinne**
Pro Patienten- bzw. Kontrollserum je einen Teststreifen vorsichtig mit einer Pinzette an der Beschriftung fassen, vom Steg lösen und in die Inkubationswanne legen. **Die Seite mit der grünen Trennlinie und der Beschriftung muss nach oben weisen.**
- Je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben und 5 Minuten bei Raumtemperatur (RT) auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen. Überlaufen vermeiden. **Puffer nicht abgießen.**
- Je 20 µl Patientenserum bzw. 100 µl Kontrollserum zugeben**
Seren direkt im Bereich der Beschriftung auf dem Teststreifen zugeben. Darauf achten, dass der Schüttler läuft, bzw. die Inkubationswanne nach jeder Serumzugabe schwenken.
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
- Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen. **Beim Abgießen bleiben die Teststreifen am Inkubationswannenboden haften.**
- 3 x waschen:**
- je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
Auf dem Schüttler. Restliche Flüssigkeit gut auf Filterpapier abklopfen.
- Je 1,5 ml frische Konjugat-Gebrauchsverdünnung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig mit Konjugat-Gebrauchsverdünnung bedeckt sind.
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
- Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
- 3 x waschen wie in Punkt 7**
Auf dem Schüttler.
- Je 1,5 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben und 1 Minute bei RT auf dem Schüttler inkubieren**
Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.
- Flüssigkeit abgießen**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
- Je 1,5 ml Chromogen/Substratlösung zugeben**
Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind.
- Bei RT auf dem Schüttler entwickeln**
Sobald die Cut off Kontrolle sichtbar ist, muss die Reaktion abgestoppt werden. **Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen. Achtung:** Zu langes Entwickeln verursacht Hintergrundfärbung.
- Parvovirus B19 ViraStripe® IgM: ca. 5 bis 15 Minuten**
Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklopfen.
- Stoppen: Flüssigkeit abgießen**
Ohne Zwischeninkubation.
- 3 x mit je 1,5 ml dest. oder deionisiertem Wasser spülen**
Inkubationswanne gut abklopfen. Teststreifen auf Filterpapier oder saugfähiges, ungebleichtes Papier legen und trocknen lassen.
- Teststreifen trocknen lassen und auswerten**

Auswertung

- Auswerteprotokoll:** Daten in das Auswerteprotokoll aufnehmen. Die entwickelten Teststreifen auf das Auswerteprotokoll kleben. Dabei die grüne Trennlinie der Teststreifen exakt auf die im Protokoll vorgedruckte Trennlinie legen.
- Gültigkeit der Teststreifen:** Ein Teststreifen ist gültig, wenn folgende Banden sichtbar sind:
 - Die **Serumkontrolle**.
 - Die **Konjugatkontrolle** der untersuchten Konjugatklasse. Falls mehr als eine der drei Konjugatkontrollen auftreten, muss die stärkste Bande der untersuchten Konjugatklasse entsprechen.
 - Die **Cut off Kontrolle**.**und wenn folgende Bande nicht sichtbar ist:**
 - Die **Negativkontrollbande**.
 Ungültige Teststreifen nicht auswerten!
- Zuordnung der Antigenbanden:** Die grüne Trennlinie des Teststreifens gibt die Orientierung für die Zuordnung der Antigenbanden zu dem Bandlocator auf dem Auswerteprotokoll an. Banden zuordnen und entsprechend Punkt 4 protokollieren.
- Bandenbewertung:** Entsprechend den Qualitätsrichtlinien im Labor soll pro Testansatz eine Cut off Kontrolle mitgeführt werden (7). **Die Cut off Kontrolle für den Parvovirus B19 ViraStripe® IgM befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.** Die Intensität der Cut off Kontrolle gibt den Schwellenwert an, ab dem eine Bande gewertet wird:

Eine Bande wird als **deutlich** gewertet, wenn die Intensität **gleich** oder **größer** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist. Entsprechende Banden werden im Auswerteprotokoll mit **X** gekennzeichnet.

Eine Bande wird nicht gewertet, wenn sie **nicht vorhanden** ist oder wenn ihre Intensität **kleiner** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist.
- Beurteilung der Patientenbanden:** Die Patientenbanden sind als Krankheitssymptome zu werten. Die Patientenproben sollten jeweils auf **IgG und IgM Antikörper** gegen Parvovirus B19 Antigene untersucht werden. Die Überprüfung des Antikörperstatus und Beobachtung des Antikörperverlaufs durch Untersuchung von weiteren Serumproben gibt Aufschluss über den möglichen Infektionszeitpunkt. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten erfolgen.

IgM Interpretationskriterien

Allgemein gilt: Deutliche Banden müssen eine Mindestintensität aufweisen (\geq Cut off), die anhand der Cut off Kontrolle zu bestimmen ist. Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.

Auftretende Banden	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens zwei deutliche Banden aus: VP1, VP1-N, VP2★, VP2, VP2-Cs	Positiv	Spezifische Antikörper gegen Parvovirus B19 nachweisbar. Eine akute Infektion ist wahrscheinlich. Zusätzlich IgG Antikörperstatus überprüfen. Nachweis von Virus-DNA ist empfohlen.
Eine deutliche Bande aus: VP1, VP1-N, VP2★, VP2, VP2-Cs oder keine Bande(n)	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen Antikörpern gegen Parvovirus B19 nachweisbar. Schließt eine akute Infektion nicht aus. Zusätzlich IgG Antikörperstatus überprüfen.

Rheumafaktoren können die Reaktivität der Antigenbanden im IgM beeinflussen. Bei unklaren Bandenkonstellationen **RF-Absorbens** (Virasorb, 5 ml, Best.-Nr. CB003) für die IgM Analysen verwenden.

IgM Teststreifen

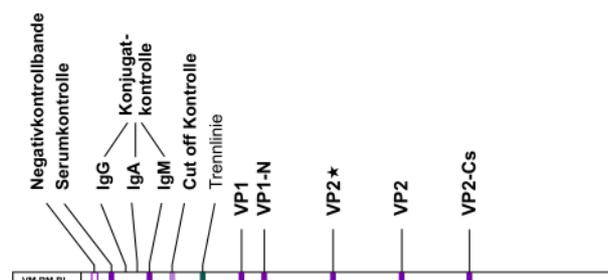


Abbildung 1: Schematische Abbildung eines Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Teststreifens in Originalgröße.

Nomenklatur und Beschreibung der Parvovirus B19 Banden aus der Literatur

Antigen:	Bemerkungen:
VP1 84 kD	lineares Volllängen-Strukturprotein VP1.
VP1-N 30 kD	linearer N-Terminus von VP1, „VP1 unique region“; immundominant.
VP2★ 60 x 58 kD	konformatives Volllängen-Strukturprotein VP2, „VP2 Virus-ähnliche Kapsidpartikel“.
VP2 58 kD	lineares Volllängen-Strukturprotein VP2.
VP2-Cs 47 kD	linearer C-Terminus VP2 „strong“.

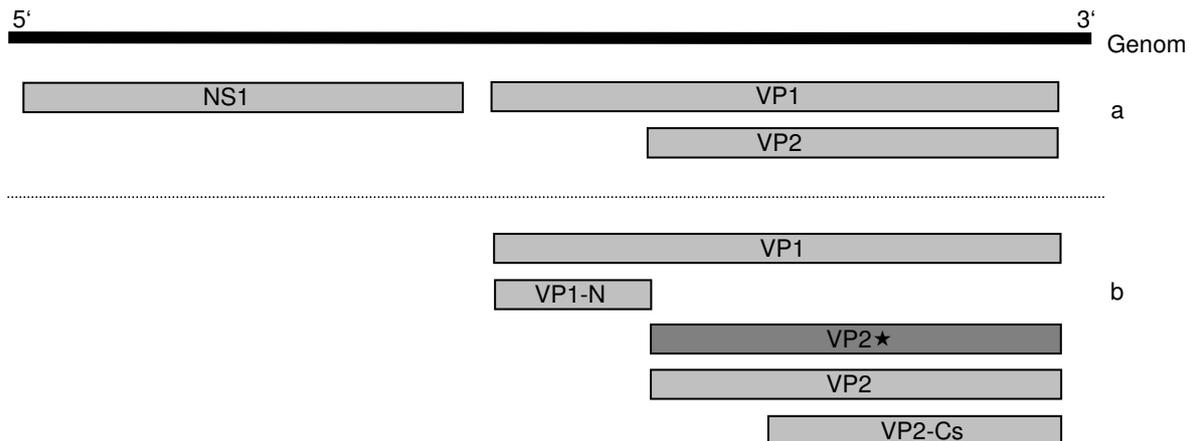


Abbildung 2: Schematische Repräsentation des Parvovirus B19 Genoms und der kodierten Proteine in vivo (a) sowie der Antigene auf dem Parvovirus B19 ViraStripe® IgM (b).

Diagnostische Bedeutung von Parvovirus B19 Antikörpern

1. IgG Antikörper gegen VP1 und VP2 werden ca. 10-12 Tage nach Infektion gebildet (9,10,11,16,23). Sie sind sowohl gegen lineare als auch gegen Konformationsepitope gerichtet. IgG Antikörper bleiben lebenslang erhalten und verleihen immunkompetenten Personen Immunität vor Parvovirus B19 Re-Infektionen (3,9,10,11,14,15,16,23, 25). Die IgG Reaktivität in der akuten Phase richtet sich hauptsächlich gegen Antigene des VP2 (9). Antikörper gegen lineare Epitope des VP1, insbesondere der N-terminale Teil, der als „VP1 unique region“ bezeichnet wird, sind auch nach der akuten Infektion über Jahre nachweisbar, während die Reaktivität der IgG Antikörper gegen lineare Epitope des VP2 bereits nach ca. 6 Monaten abnimmt (9,14,15,16,17). Der Antikörpernachweis gegen lineare Epitope des VP2 deutet daher auf eine akute oder eine kürzlich zurückliegende Parvovirus B19 Infektion bzw. auf Rekonvaleszenz hin (9,17). Diese Reaktivität ist hauptsächlich gegen den C-terminalen Teil des VP2 gerichtet. In diesem Bereich finden sich Peptidsequenzen, die mit Akutphasen-Seren als diagnostische „hot spots“ Akutmarker identifiziert wurden (17). IgG Antikörper gegen Konformationsepitope von VP1 und VP2 werden früh gebildet und persistieren lebenslang (2,3,4,5,11,14,15,16). Detektion von IgG Antikörpern gegen Konformationsepitope der VP2 Virus-ähnlichen Kapsidpartikel weisen auf eine zurückliegende Infektion hin. Somit ist ihr Nachweis ein Indikator für Immunität (3,9,10,11,14,15,16, 23).

VP1 zeigt eine deutlich effektivere Immunantwort mit neutralisierender Wirkung als VP2 (8,11,13,15,16). Die „VP1 unique region“ ist besonders immundominant und Antikörper gegen dieses Peptid tragen hauptsächlich zur Neutralisierung des Virus bei (12,13,14,15). Trotz neutralisierender Wirkung der IgG Antikörper sind infizierte Schwangere häufig in einer verlängerten Akutphase und über Monate virämisch (16, 25).

IgM Antikörper gegen das Nicht-Strukturprotein NS1 wurden ursprünglich mit schweren Verläufen von Parvovirus B19 Infektionen assoziiert (18). Jedoch wurde mittlerweile mehrfach gezeigt, dass die NS1 IgG Reaktivität bei infizierten Personen unabhängig vom Schweregrad oder der Symptomatik ist. IgG Antikörper gegen NS1 können in der Regel ca. 6-8 Wochen nach dem Erregerkontakt erscheinen (19,20,21,22).

2. IgM Antikörper Nachweis deutet auf akute Infektionen hin, reicht aber alleine nicht aus, denn IgM negative Patienten können sich dennoch in der akuten Infektionsphase befinden (16). In der Regel erscheinen IgM Antikörper erstmalig 7-10 Tage nach der Infektion. Allgemein sinkt die IgM Antwort im Laufe der folgenden 3 Monate ab. Häufig ist bereits 3 Wochen nach Viruskontakt ein IgM Nachweis nicht mehr möglich (5,6,11, 14,15,16,23,24). Zu dieser Zeit können die Patienten, insbesondere schwangere Frauen, noch virämisch sein und daher noch in der akuten Phase (16,25). IgM Antikörper sind hauptsächlich gegen VP2 spezifische Epitope gerichtet (11). Dabei spielen sowohl lineare als auch Konformationsepitope eine wichtige Rolle (14,16,24,26). Im Fall der Konformationsepitope erscheinen Antikörper gegen VP1 und VP2 etwa zeitgleich nach der Infektion wobei die IgM Antikörper gegen lineare VP1 Epitope etwas länger persistieren als gegen lineare VP2 Epitope (14,16, 24,26). IgM Antikörper gegen NS1 haben in der Regel keine diagnostische Bedeutung (14,16,24,26). Generell nehmen IgM Antikörper gegen Parvovirus B19-spezifische Antigene innerhalb der ersten 3 Monate ab (2,3,4,5,9,10,13,14,15,16,24).

3. IgA Antikörper sind nach Erscheinen der klinischen Symptome in ca. 50 % der Fälle für kurze Zeit detektierbar und haben in der Regel keine zusätzliche diagnostische Bedeutung (26).

IgM Leistungsdaten

Korrelation mit Referenztesten, Seroprävalenz und Kreuzreaktivität

Zur Bestimmung der Korrelation wurden positive und negative Seren aus unterschiedlichen Kollektiven mit dem **Parvovirus B19 ViraStripe® IgM** im Vergleich zu einem Referenztest ELISA bzw. IFT untersucht.

Virus DNA-positive Seren (10 ³ -10 ¹² IU/ml*)	Referenztest ELISA		Referenztest IFT	
	n = 42		n = 42	
Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Positiv	22	0	22	0
Negativ	4	16	3	17
	Korrelation: 90 %		Korrelation: 93 %	

*) IU/ml entspricht annähernd Genomäquivalenten pro ml Blut

Seren gesunder Personen	Referenztest ELISA		Referenztest IFT	
	n = 206		n = 206	
Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Positiv	0	2	1	1
Negativ	1	203	2	202
	Korrelation: 99 %		Korrelation: 99 %	

Routine-Seren Schwangere	Referenztest ELISA		Routine-Seren Nicht-Schwangere	Referenztest ELISA	
	n = 68			n = 38	
Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	Positiv	Negativ	Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	Positiv	Negativ
Positiv	3	0	Positiv	8	0
Negativ	1	64	Negativ	4	26
	Korrelation: 99 %			Korrelation: 89 %	

Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	IgM Seroprävalenz bei Blutspendern (unselektioniert)	IgM Reaktivität bei potentiell kreuzreaktiven Seren*
	n = 146	n = 72
Positiv	1	1
Negativ	145	71
	Seroprävalenz: 0,7 %[#]	

[#]) (27)

*) Potentiell kreuzreaktive Seren (HHV6 n = 1, HHV7 n = 10, HSV n = 22, Masern n = 2, Mumps n = 13, Rubella n = 11, VZV n = 13)

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

- 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.
- Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Allgemein sollten beim Umgang mit biologischen und chemischen Arbeitsstoffen die Richtlinien zur „Guten Laborpraxis (GLP)“ angewendet werden. Allgemeine Hygienemaßnahmen sind unter anderem:
 - Nicht mit dem Mund pipettieren.
 - Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
 - Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

- Die Chromogen/Substratlösung enthält BCIP und NBT. Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.
- Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Labortechniken zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C bei feuchter Hitze. 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.
- Bitte beachten Sie die Angaben in den Sicherheitsdatenblättern 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.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

- Teststreifen:** Verschllossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Konjugat-Konzentrat:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Konjugat-Gebrauchsverdünnung:** Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.
- Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

- Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.
- Proben-/Waschpuffersalz:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- Chromogen/Substratlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!

Hinweise zum Probenmaterial

- Der **Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit** ist mit Serum als Probenmaterial durchzuführen.
- Es sind nur klare, nicht-hämolytierte und nicht mikrobiell kontaminierte Proben zu verwenden.
- Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu falschen Ergebnissen führen.

- In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sind die Proben in Aliquots bei -20°C (oder kälter) einzufrieren.
- 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.
- Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Einschränkungen des Verfahrens

- Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice“ genau eingehalten werden.
- Ein positives Testergebnis wird aufgrund erhöhter spezifischer Antikörpertiter erreicht und ist wie ein Symptom zu werten. Der Rückschluss auf eine Infektion ist nur bedingt möglich.
- Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
- Dieser Test ist nur durchzuführen von Fachpersonal, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
- Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen

- mit verschiedenen Testen bzw. von verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.
- Teststreifen mit extrem starkem Hintergrund sind nicht auszuwerten, vor allem wenn Banden heller als der Hintergrund erscheinen.
 - In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
 - Gründliches Waschen ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungenügendes Waschen kann falsche Ergebnisse verursachen.

Literatur

- Brown C. S., van Lent J., Vlak J.M., Spaan W.J. Assembly of empty capsids by using baculovirus recombinants expressing human parvovirus B19 structural proteins. *J. Virol.* Vol 65, p. 2702-2706 (1991)
- Kajigaya S., Fujii H., Field A., Anderson S., Rosenfeld S., Anderson L.J., Shimada T., Young N.S. Self-assembled B19 parvovirus capsids, produced in a baculovirus system, are antigenically and immunogenically similar to native virions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* Vol. 88, p. 4646-50 (1991)
- Brown C.S., Jensen T., Meloen R.H., Puijk W., Sugamura K., Sato H., Spaan W.J. Localization of an immunodominant domain on baculovirus-produced parvovirus B19 capsids: correlation to a major surface region on the native virus particle. *J. Virol.* Vol. 66, p. 6989-6996. (1992)
- Kerr S., O'Keefe G., Kilty C., Doyle S. Undenatured Parvovirus B19 antigens are essential for the accurate detection of Parvovirus B19 IgG. *J. Med. Virol.* Vol. 57, p. 179-185 (1999)
- Jordan JA. Comparison of a baculovirus-based VP2 enzyme immunoassay (EIA) to an Escherichia coli-based VP1 EIA for detection of human Parvovirus B19 immunoglobulin M and immunoglobulin G in sera of pregnant women. *J. Clin. Microbiol.* Vol. 38, p. 1472-1475 (2000)
- Jordan J.A. Diagnosing human parvovirus B19 infection: Guidelines for test selection. *Mol. Diagn.* Vol.6, p.307-312 (2001)
- Rili-bäk: Richtlinie der Bundesärztekammer zur Qualitätssicherung laboratoriumsmedizinischer Untersuchungen. www.bundesaeztekammer.de (2008)
- Söderlund M., Brown K.E., Meurman O., Hedman K. Prokaryotic Expression of a VP1 Polypeptide Antigen for Diagnosis by a Human Parvovirus B19 Antibody Enzyme Immunoassay. *J. Clin. Microbiology*, Vol. 30, p. 305-311 (1992)
- Söderlund M., Brown C.S., Spaan W.J., Hedman L., Hedman K. Epitope type-specific IgG responses to capsid proteins VP1 and VP2 of human Parvovirus B19. *J. Infect. Dis.* Vol. 172, p. 1431-1436 (1995)
- Manaresi E., Gallinella G., Zerbinì M.L., Venturoli S. IgG immune response to Parvovirus B19 VP1 and VP2 linear epitopes by immunoblot assay. *J. Med. Virol.* Vol. 57, p. 174-178 (1999)
- Modrow S, Dorsch S. Antibody responses in parvovirus B19 infected patients. *Pathol. Biol.* Vol. 50, p. 326-331 (2002)
- Dorsch S., Kaufmann B., Schaible U., Prohaska E., Wolf H., Modrow S. The VP1-unique region of parvovirus B19: amino acid variability and antigenic stability. *J. General Virology* Vol. 82, p. 191-199 (2001)
- Ros C., Gerber M., Kempf C. Conformational Changes in the VP1-Unique Region of Native Human Parvovirus B19 Lead to Exposure of Internal Sequences That Play a Role in Virus Neutralization and Infectivity. *J. Virol.* Vol. 80, p. 12017-12024 (2006)
- Young N.S., Brown C.S. Parvovirus B19. *New Engl. J. Med.* Vol. 350, p. 586 (2004)
- Corcoran A., Mahon B.P., Doyle S. B.cell memory is directed toward conformational epitopes of parvovirus B19 capsid proteins and the unique region of VP1. *J. Infect. Dis.* Vol.189, p. 1873-1880 (2004)
- Modrow S., Gärtner B. Parvovirus B19 Infection in Pregnancy. *Dtsch Arztebl.* 103, p. 2869-2874 (2006)

Parvovirus B19 ViraStripe® IgM Test Kit

- 7 -

17. Kaikkonen L., Lankinen H., Harjunpää I., Hokynar K., Maria Söderlund-Venermo M., Oker-Blom C., Hedman L., Hedman K., Acute-Phase-Specific Heptapeptide Epitope for Diagnosis of Parvovirus B19 Infection. Clin. Microbiology Vol. 37, p. 3952-3956 (1999)
18. von Poblitzki A., Gigler A., Lang B. Wolf H., Modrow S. Antibodies to Parvovirus B19 NS1 protein in infected individuals: J. Gen. Virol. 76, 519-527 (1995)
19. Searle K., Guilliard C., Enders G. 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. Vol. 56, p.192-198 (1998)
20. Venturoli S., Gallinella G., Manaresi E., Gentilomi G., Musiani M., Zerbini M.. IgG response to the immunoreactive region of parvovirus B19 nonstructural protein by immunoblot assay with a recombinant antigen. J. infect. Dis. Vol.178, p. 1826-1829 (1998)
21. Mitchell L.A., Leong R., Rosenke K.A. Lymphocyte recognition of human Parvovirus B19 non structural (NS1) protein: association with occurrence of acute and chronic arthropaty? J. Med. Microbiol. Vol. 50, p. 627-635 (2001)
22. Jones L.P., Erdmann D.D., Anderson L.J. Antibodies to human Parvovirus B19 nonstructural protein in persons with various clinical outcomes following B19 infection. J. Infect. Dis. Vol. 180, p. 500-504. (1999)
23. Anderson M. J., Higgins P. G., Davis L.R., Willman J. S., Jones S. E., Kidd I. M., Pattison J.R., Tyrrell D. A. J. Experimental parvoviral infection in humans. J. Infect. Dis. Vol. 152, p. 257-265 (1985)
24. Manaresi E., Zuffi E., Gallinella G., Gentiloni G., Zerbini M.L., Musiani M. Differential IgM response to conformational and linear epitopes of Parvovirus B19 VP1 and VP2 structural proteins. J. Med. Virol. Vol. 64, p. 67-73 (2001)
25. Enders M., Schalasta G., Baisch C., Weidner A., Pukkila L., Kaikkonen L., Lankinen H., Hedman L., Söderlund-Venermo M., Hedman K. Human parvovirus B19 infection during pregnancy - value of modern molecular and serological diagnostics. J. Clin. Virol. Vol 35, p. 400-406 (2006)
26. Erdmann D.D., Usher M. J., Tsou C., Caul E. O., Gary G. W., Kajigaya S., Young N. S., Anderson, L. J. Human Parvovirus B19 specific IgG, IgA and IgM antibodies and DNA in serum specimens from persons with erythema infectiosum. J. Med. Virol. Vol. 35, p.110-115 (1991)
27. Röhrer C., Gärtner B., Sauerbrei A., Böhm S., Hotterträger B., Raab U., Thierfelder W., Wutzler P., Modrow S. Seroprevalence of parvovirus B19 in the German population. Epidemiol. Infect. Vol. 136, p. 1564-1575 (2008)

Symbolerklärungen

	Hersteller	REF	Bestellnummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
IVD	<i>In-Vitro</i> Diagnostikum		Temperaturbegrenzung (Lagerung)
LOT	Testkit-Chargen-Nummer	CONTROL +	Positive Serumkontrolle
	Ausreichend für 50 Ansätze	CONTROL -	Negative Serumkontrolle
	Raumtemperatur in °C	CONTROL	Kontrolle
	Bearbeiter	DATE	Datum
#	Probennummer	 SUBSTRATE	Chromogen/Substratentwicklungszeit in Minuten
PROTOCOL	Auswerteprotokoll	No	Protokollnummer