

Arbovirus ViraChip® -IgG tesztkészlet

Használati utasítás



Chip-immunoblot az **IgG** antitestek kvalitatív kimutatására specifikus **arbovirus** antigének ellen a Zika vírus, a dengue vírus és a chikungunya vírus fajokból emberi szérumban.

Az **Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet** egy enzimimmunoassay alapú immunoblot mikroarray formátumban, amely három különböző arbovirus elleni antitestek kimutatására alkalmas. Ehhez a Zika vírus, a dengue vírus és a chikungunya vírus tisztított, specifikus antigéneit meghatározott pozíciókban nitrocellulózra kötik. A tisztított, specifikus antigének burkolófehérjét és nem szerkezeti fehérjét tartalmaznak.

Az **Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet** megfelel a **98/79/EK** irányelv minőségi szabványainak.

A teszt elve

Egy 96 üreges standard mikrotiterlemez (MTP) minden üregének alján egy nitrocellulóz membrán található, amelyen antigének vannak rögzítve analitikus pontokként (mikroarray). A szérumban inkubáció során az arbovirus-specifikus antitestek a beteg szérumban 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 kromogén/szubsztrátot, és ezzel lila vagy fekete színűre festi az antigén-antitest komplexet a mikrosoron. A szérumban inkubációja, a konjugátum inkubációja és a kromogén/szubsztrát inkubációja után minden esetben mosási lépés következik a nem kötődött antitestek és reagens eltávolítására.

Minden mikrosorozat az analitfoltok mellett a következő kontrollfoltokat tartalmazza: **szérumkontrollok**, **konjugátumkontrollok**, **kalibrátorkontrollok** és egy **negatív kontroll**. Az analitfoltok az arbovirus-specifikus antigének elleni antitestek kimutatására szolgálnak:

1. a „Z-” jelöléssel ellátott Zika vírus antigének **Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII*, Z-NS1**
2. a „D-” jelöléssel ellátott dengue vírus antigének **D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII*, D-NS1** és
3. a „C-” jelöléssel ellátott Chikungunya vírus antigén **C-E**.

Így az Arbovirus ViraChip® IgG mikrosorozat segítségével három arbovirus specifikus IgG antitestjei mutathatók ki párhuzamosan.

Az egyértelmű jelölés érdekében a üregek színkóddal vannak ellátva: az Arbovirus ViraChip® IgG-t egy **kék kör** jelöli az üreg szélén.

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

A készlet tartalma

1 MTP 96 üreggel ABCGAC)	Arbovirus ViraChip® IgG antigénnel bevont üregek	(Termék szám: V-
12 ml UVCCKI)	Egyenként eltörhető üregek ViraChip® mikrosorozatokkal, használatra kész ViraChip® AP-Anti-Human IgG konjugátum	(Rendelési szám: V-
100 ml UVNUWP)	Anti-humán IgG konjugátum oldat ViraChip® tesztekhez, kecskéből, bovin alkáli foszfatázzal, használatra kész ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® hígítószer / mosópuffer	(Rendelési szám: V-
12 ml	Mosópuffer-koncentrátum ViraChip® tesztekhez, detergensszel és sókkal a nem specifikus kötődések megakadályozására, 10-szeres ViraChip® kromogén / szubsztrát oldat	(Rend. sz.: V-UVCUCS)
50 ml UVCUPP)	Kromogén / szubsztrát oldat ViraChip® tesztekhez, BCIP / NBT-vel, használatra kész ViraChip® Mintapuffer	(Rendelési szám: V-
	Mintapuffer ViraChip® tesztekhez, tejporral, detergensszel és sókkal a nem specifikus kötődések megakadályozására, használatra kész	

Opcionálisan kapható

1 MTP-sáv 8 üreggel ABCGRT)	Arbovirus ViraChip® IgG antigén bevonatú üregek (8)	(Rendelési szám: V-
110 µl	Egyenként eltörhető üregek ViraChip® mikrosorozatokkal, használatra kész Arbovirus ViraChip® IgG pozitív kontroll	(Rend. sz.: V-ABCGPK)
330 µl	IgG pozitív kontrollszérumban, humán, használatra kész Arbovirus ViraChip® IgG,A,M negatív kontroll	(Rend. sz.: V-ABCPNK)
	IgG, IgA, IgM negatív kontrollszérumban, humán, használatra kész	

További szükséges felszerelés

1. **ViraChip Software®** (VCNUPR) a teszt előkészítéséhez, elvégzéséhez és kiértékeléséhez, v1.3.0-1960-tól (Rendelési szám: V-
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 rázóegység (750 rpm)** vagy **lineáris rázóegység (20 Hz)** a minták és reagensz keveréséhez a feldolgozás során
5. **ViraChip® szkennel** (UVCSCA) a kifejlesztett ViraChip® tesztek digitalizálásához/méréséhez, a ViraChip® (rendelési szám: V-
6. **ViraChip® Reader** (UVCCAM) szkennel v1.0 vagy ViraChip® olvasó Rev.01 (rendelési szám: V-
6. Opcionális: **ventilátor/szellőző** a kifejlesztett mikrotiterlemezek gyorsabb szárításához

A reagens 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.

2792_Arbovirus_ViraChip-IgG_2.0_AL_de_RevB

© Copyright VIRAMED Biotech AG január 2024 0122/0835

Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet

-2 -

**A mosópuffer-
ml használati hígítás:**

Minta puffer:

Konjugátumoldat:

Kromogén / szubsztrátoldat:

MTP-üregek:

A mosópuffer-koncentrátumot 1:10 arányban desztillált vagy ionmentes vízzel (H₂O) hígítsa, pl.: 100 mosópuffer-koncentrátum + 900 ml H₂O

Kész a használatra

Kész a használatra

Kész a használatra

Óvatosan vegye ki a mikrotiterlemez (MTP) a csomagolásból, és helyezze a szükséges számú üreget egy üres mikrotiterlemez-keretbe (A teszt előkészítése és elvégzése, 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 kell felhasználni, pl. **10 µl betegminta + 750 µl mintapuffer**. A hígított mintából 100 µl szükséges a feldolgozáshoz.

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.

Az Arbovirus ViraChip® IgG mikrosorozat felépítése

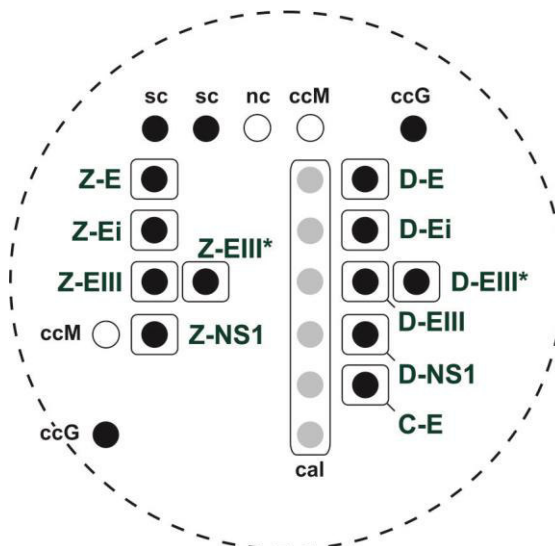
Antigének:

Minden Zika-vírusspecifikus antigén (**Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII*** és **Z-NS1**), dengue-vírusspecifikus antigén (**D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII*** és **D-NS1**) és a chikungunya vírusspecifikus antigén (**C-E**) egy-egy pontként kerül felvitelre. Minden pont egy sávnak felel meg a Western blot / immunoblotban.

Ellenőrzések:

Minden ViraChip® üreg a következő integrált kontrollokat tartalmazza:

Két szérumkontroll (sc), egy negatív kontroll (nc), két IgG-konjugátum-kontroll (ccG), két IgM-konjugátum-kontroll (ccM) és hat kalibrátorkontroll (cal).



1. ábra: A mikrotiterlemez egy üregének ábrázolása az Arbovirus ViraChip® IgG mikrosorral (nagyítva). Az antigénekhez tartozó foltok és az integrált kontrollokhoz tartozó foltok elrendezése.

Az Arbovirus antigének nomenklaturája és leírása a szakirodalom alapján

Arbovirus	Nomenklatúra:	Antigén:	Megjegyzések:
Zika-vírus	Z-E	Envelope	A Zika-vírus E-fehérje a virion felületének nagy részét képezi, és részt vesz a replikáció során zajló folyamatokban, mint például a gazdasejtekhez való kötődés és a membránfúzió (10,8,23).
	Z-tojás	Envelope	A Zika-vírus belső E-fehérje fragmense.
	Z-EIII	Envelope III	A Zika-vírus E-fehérje régiója.
	Z-EIII*	Envelope III*	A Zika-vírus E-fehérjének módosult régiója.
	Z-NS1	Nem szerkezeti fehérje	Az NS1 egy nagy fehérje, amely különböző funkciókat lát el a Zika-vírus immunelkerülésében, patogenezisében és vírusreplikációjában (3,13).
Dengue-vírus	D-E	Envelope	A dengue vírus E fehérje a virion felületének nagy részét képezi, és részt vesz a replikáció során zajló folyamatokban, mint például a gazdasejtekhez való kötődés és a membránfúzió (19,17).
	D-Ei	Hüvely	A dengue-vírus belső E-fehérje fragmense.

Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet

-3 -

Arbovirus	Nomenklatura:	Antigén:	Megjegyzések:
	D-EIII	III. burkolat	A dengue-vírus E-fehérje régiója.
	D-EIII*	III* burkolat	A dengue-vírus E-fehérjéjének módosított régiója.
	D-NS1	Nem szerkezeti fehérje	Az NS1 egy nagy fehérje, amely különböző funkciókat lát el a dengue-vírus immunelkerülésében, patogenezisében és vírusreplikációjában (22).
Chikungunya vírus	C-E	Envelope	Az E-fehérje egy fúziós fehérje, amely a chikungunya vírusfertőzés során közvetíti a membránfúziót (6).

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 szóló útmutatója, valamint a ViraChip®szoftver használatára vonatkozó útmutató a Viramed Biotech AG által biztosított készülékeállítás és képzés során kerül rendelkezésre. Lásd még a „Megjegyzések a készülékekről és a szoftverről” című részt.

1. Bizonyíték

A teszt kiválasztása és a mintadatok bevitel a ViraChip® szoftver foglалási 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.

3.1. 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

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

3.3. Széruminkubáció

- A foglалási tervnek megfelelően adjon 100 µl hígított betegmintát vagy 100 µl hígított kontrollszérumot a megfelelő üregbe.
- 30 percig szobahőmérsékleten inkubálja a rázógépen.
- Szívja le a folyadékot.

3.4. 3 x mosás

- Minden üregbe adjon 300 µl mosópuffer-használati hígítást.
- 5 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubáljuk.
- A folyadékot felszívni.

3.5. Konjugátum inkubálása

- Minden üregbe adjon 100 µl konjugátumoldatot.
- 30 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubálja.
- Szívja le a folyadékot.

3.6. 3 x mosás

- Minden üregbe 300 µl mosópuffer-használati hígítást adjon hozzá.
- 5 percig szobahőmérsékleten rázógépen inkubálja.
- Szívja le a folyadékot.

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

- Adjón 100 µl kromogén/szubsztrát oldatot minden üregbe.
- 15 percig inkubálja szobahőmérsékleten a rázógépen.
- Leállítás: a folyadékot felszívni.

3.9. 3 x mosás

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

3.10. Üregek szárítása

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

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

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

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.

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

4. Beolvasás

A ViraChip® mikroarrayeket a ViraChip® szkennelrel 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.

5. Elemzés

5.1 Az antigénfoltok és a kontrollfoltok hozzárendelésének ellenőrzése (technikai validálás)

A ViraChip® szoftver minden foltot a pozíciója alapján automatikusan a megfelelő antigénfoltokhoz vagy kontrollfoltokhoz 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 hálózat akkor érvényes, ha a következő kontrollpontok megfelelnek a ViraChip® szoftverben tárolt kritériumoknak:

- **Szérumkontrollok** (sc) a határérték felett
- **Konjugátum kontrollok IgG** (ccG) a határérték felett
- Az IgG konjugátum kontrolloknak erősebben kell reagálniuk, mint a többi konjugátum osztály kontrolljainak.
- **Kalibrátorkontrollok** (cal) a határérték felett
- **Negatív kontroll** (nc) a határérték alatt

Ha az említett kritériumok valamelyike 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 ponton a ViraChip® szoftver számítja ki, figyelembe véve a tétel-specifikus tényezőket a kalibrátor kontrollokhoz viszonyítva.

Értékelési kritériumok

A foltok ViraChip® egységei	Eredmény	Értékelés
a Zika vírus antigének: a Z-NS1 folt ≥ 100 ViraChip® egység vagy legalább két antigén-spot ≥ 100 ViraChip® egység Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII* Nincs folt ≥ 100 ViraChip® egység vagy minden egyéb konstelláció	Pozitív Zika vírus Negatív Zika-vírus	Specifikus IgG antitestek kimutathatók a Zika vírus ellen. Valószínűsíthető a Zika vírussal való fertőzés. Nincs kimutatható specifikus IgG antitest a Zika vírus antigének ellen. Friss fertőzés gyanúja esetén további IgM antitest vizsgálatot kell végezni, majd 2-3 hét múlva egy második mintát kell vizsgálni IgM és IgG antitestek szempontjából.
a dengue vírus antigének: a D-NS1 Spot ≥ 100 ViraChip® egység vagy legalább két antigénfolt ≥ 100 ViraChip® egység: D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII* Nincs folt ≥ 100 ViraChip® egység vagy minden egyéb konstelláció	pozitív dengue vírusra Negatív a dengue vírusra	Specifikus IgG antitestek a dengue vírus antigén ellen kimutathatók. Dengue vírus fertőzés valószínű. Nincs kimutatható specifikus IgG antitest a dengue vírus antigénjei ellen. Új fertőzés gyanúja esetén további IgM antitest vizsgálatot kell végezni, majd 2-3 hét múlva egy második mintát kell vizsgálni IgM és IgG antitestek szempontjából.
a chikungunya vírus antigénje: a C-E Spot ≥ 100 ViraChip® egység a C-E folt < 100 ViraChip® egység	pozitív a chikungunya vírusra Negatív a Chikungunya vírusra	A Chikungunya vírus burkolatantigénje ellen specifikus IgG antitestek kimutathatók. Valószínűsíthető a Chikungunya vírussal való fertőzés. Nincs kimutatható specifikus IgG antitest a Chikungunya vírus burkolóantigénje ellen. Friss fertőzés gyanúja esetén további IgM antitest vizsgálatot kell végezni, majd 2-3 hét múlva egy második mintát kell vizsgálni IgM és IgG antitestek szempontjából.

Az arbovirus antitestek diagnosztikai jelentősége

1. Általános

A Zika-, dengue- és chikungunya-vírusok humánpatogén arbovirusok, amelyeket elsősorban szúnyogok (Aedes nemzetség) terjesztenek. A Zika- és a dengue-vírus a Flaviviridae családba

Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet

-6 -

(Flavivirus nemzetség), a chikungunya-vírus pedig a Togaviridae családba (Alphavirus nemzetség) tartozik (9). Mind a közeli genetikai rokonság, mind a vírusok átfedő, elterjedési területe megnehezíti a szerológiai megkülönböztetést.

A megbízható diagnózist tovább nehezíti, hogy sok flavivírus (például a Zika- és a dengue-vírus) hasonló vagy egyáltalán nem okoz betegségtüneteket, és a Zika-vírussal fertőzött betegek antitestjei keresztreakálhatnak más flavivírusokkal (30). Továbbá különösen a Zika-vírussal vagy a Chikungunya-vírussal való fertőzés gyanúja merül fel a terheesség alatt, ami kockázatot jelenthet a magzatra nézve (26,27,4).

2. Zika-vírus elleni antitestek

a) Az IgG antitestek az IgM antitestek után néhány nappal képződnek, és a fertőzés után hónapokkal vagy évekkel később is kimutathatók (5), vagy akár egész életen át fennmaradhatnak (18).

b) Az IgM antitestek általában néhány nappal a betegség kezdete után jelennek meg (14,5) és akár három hónapig is kimutathatók. Az IgM antitestek általában már 4-8 héttel a tünetek megjelenése után eltűnnek (18), de vannak olyan betegek is, akiknél az IgM antitestek hosszabb ideig kimutathatók (5).

Általában az IgM antitestek egy friss fertőzés esetén mutathatók ki (18), és így akut fertőzés tüneteként értelmezhetők.

3. Dengue-vírus antitestek

a) Az elsődleges fertőzés esetén az IgG antitestek általában körülbelül egy héttel a betegség kezdete után jelennek meg, néhány héttel a fertőzés után érik el csúcspontjukat, majd kissé csökkennek, és évtizedekig vagy még tovább fennmaradnak (28).

A másodlagos dengue-vírusfertőzésre jellemző a magas titerű anti-dengue-IgG antitestek megjelenése az IgM antitestek megjelenése előtt vagy azzal egyidejűleg (20).

b) Az elsődleges fertőzés során az IgM antitestek már 3–5 nappal a betegség kezdete után megjelennek. Körülbelül 2 héttel a fertőzés után érik el csúcspontjukat, majd csökkennek (20).

Elsődleges és másodlagos dengue-vírus-fertőzések esetén az IgM-antitestek képződésének kinetikája hasonló (20). Másodlagos fertőzések esetén azonban az IgM-antitestek titerje általában jelentősen alacsonyabb (20), sőt akár teljesen hiányozhat is (11), ami hamis negatív eredményekhez vezethet (18). A szoros

rokonság miatt a flavivírusokkal, például a Zika-vírussal történő másodlagos fertőzések esetén hasonlóan viselkedés figyelhető meg.

4. Chikungunya vírus ellenanyagok

a) Az IgG antitestek már a betegség hetedik napjától kimutathatók (18) és néhány hónapig fennmaradnak (16). Az IgG antitestek legalább négyszeres emelkedése két egymást követő betegintában a fertőzés bizonyítékának tekinthető (18).

b) Az IgM antitestek általában már a betegség akut fázisában kimutathatók a beteg szérumban (16), legkésőbb 5-7 nappal a betegség kezdete után (18,15). Az IgM antitestek titerje a betegség kitörése után 3-5 héttel a legmagasabb, és körülbelül 2 hónapig fennmarad (29). Az IgM antitestek kimutatása önmagában akut fertőzésre utal, de ezt kontrollvizsgálattal kell megerősíteni (18).

5. Minden arbovírus esetében az E-fehérje (Envelope Protein, E-fehérje) az immunválasz semlegesítő antitestjeinek elsődleges célpontja. A legújabb tanulmányok szerint a Zika-vírus E-fehérje nagyon hasonlít a dengue-vírus és a nyugat-nílusi vírus E-fehérjéjéhez (1,12). Különösen a chikungunya-vírus esetében az E-fehérje rendkívül specifikusnak tekinthető (6).

6. Keresztjeljesítményeket írtak le a Zika-, dengue-, nyugat-nílusi-, sárgaláz-, japán encephalitis-, FSME- és chikungunya-vírusok fertőzései között (31,12,7). Azokban a területeken, ahol két vagy több arbovírus endemikusan előfordul, a többszörös és egymást követő fertőzések megnehezítik a differenciáldiagnózist a már korábban jelen lévő arbovírus-specifikus antitestek miatt (7,30).

7. Az elsődleges fertőzés után a betegség lefolyása súlyosbodhat egy antigénileg rokon vírussal történő második fertőzés esetén a meglévő fajok közötti és keresztreakáló antitestek miatt (1,2,21).

8. Más vírusfertőzések, pl. EBV által kiváltott poliklonális stimulációk pozitív antitestreakciókat eredményezhetnek az Arbovirus ViraChip® IgG Test Kít 2.0 tesztkészleten.

9. A teszt értékelése és az azt követő tesztértelmezés során figyelembe kell venni a beteg korábbi arbovírusokkal való érintkezését utazás vagy hosszabb tartózkodás során endémiás területeken.

Teljesítményadatok

Érzékenység

A Zika-vírus, dengue-vírus és/vagy chikungunya-vírus fertőzés klinikai gyanújával rendelkező szérummintákat az Arbovirus ViraChip® IgG segítségével elemezték a Zika-vírus, dengue-vírus és chikungunya-vírus elleni IgG antitestek tekintetében. Az eredményeket az 1a, 1b és 1c táblázat tartalmazza.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – Zika-vírus Eredmény			
	Összesen	Pozitív	Negatív	% Érzékenység
Zika vírus klinikailag meghatározott*	25	25	0	100% (25/25)

1a. táblázat: Klinikai szempontból meghatározott Zika-vírus fertőzéssel rendelkező szérumminták. Arbovirus ViraChip® IgG – Zika-vírus eredmények.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – dengue-vírus eredmény			
	Összesen	Pozitív	Negatív	% Érzékenység
Dengue vírus klinikailag meghatározott*	12	11	1	92% (11/12)

1b. táblázat: Klinikai szempontból meghatározott dengue-vírusfertőzéssel rendelkező szérumminták. Arbovirus ViraChip® IgG – dengue-vírus eredmények.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – Chikungunya vírus eredmény			
	Összesen	Pozitív	Negatív	% Érzékenység
Chikungunya vírus klinikailag meghatározott*	20	20	0	100% (20/20)

1c. táblázat: Klinikai szempontból meghatározott Chikungunya vírusfertőzéssel rendelkező szérumminták. Arbovirus ViraChip® IgG – Chikungunya vírus eredmények.

*) Ugyanazon arbovírussal vagy más arbovírusokkal történő többszörös fertőzésekre vonatkozóan nincs információ.

Specifitás

Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészlet

- 7 -

Az analitikai specifitás meghatározásához 84 vérdonor mintát Németországból (nem endémiás régió) és 14 terhes nő mintát Németországból (nem endémiás régió) elemeztünk az Arbovirus ViraChip® IgG-vel a Zika-vírus, a dengue-vírus és a chikungunya-vírus elleni IgG antitestek kimutatására. Az eredményeket a 2a, 2b és 2c táblázat tartalmazza.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – Zika-vírus Eredmény				
	Összesen	Negatív	Pozitív	% Pozitív	% specifitás
Vérdonorok (nem endemikus)	84	81	3	4	96% (81/84)
Terhes nők (nem endemikus)	14	14	0	0	100% (14/14)
Összesen	98	95	3	3	97% (95/98)

2a. táblázat: Specifitás németországi vérdonorok (nem endémiás régió) és németországi terhes nők (nem endémiás régió) esetében. Arbovirus ViraChip® IgG – Zika vírus eredmények.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – dengue-vírus eredmény				
	Összesen	Negatív	Pozitív	% Pozitív	% specifitás
Vérdonorok (nem endemikus)	84	81	3	4	96% (81/84)
Terhes nők (nem endemikus)	14	13	1	7	93% (13/14)
Összesen	98	94	4	4	96% (94/98)

2b. táblázat: Specifitás németországi vérdonorok (nem endémiás régió) és németországi terhes nők (nem endémiás régió) esetében. Arbovirus ViraChip® IgG – dengue-vírus eredmények.

Szérumminták	Arbovirus ViraChip® IgG – Chikungunya vírus eredmény				
	Összesen	Negatív	Pozitív	% Pozitív	% specifitás
Vérdonorok (nem endemikus)	84	84	0	0	100% (84/84)
Terhes nők (nem endemikus)	14	13	1	7	93% (13/14)
Összesen	98	97	1	1	99% (97/98)

2c táblázat: Specifitás németországi vérdonorok (nem endémiás régió) és németországi terhes nők (nem endémiás régió) esetében. Arbovirus ViraChip® IgG – Chikungunya vírus eredmények.

A felhasználókkal szemben támasztott követelmények

1. Ezt a tesztet csak olyan szaklaboratóriumban szabad elvégezni, amely rendelkezik a megfelelő laboratóriumi felszereléssel (pl. a „Good Laboratory Practice”, 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.

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. Kerülni kell a por és egyéb szennyeződések bejutását az MTP

üregeibe, mivel ez érvénytelen eredményeket eredményezhet.

A betegminták begyűjtése, kezelése és tárolása

1. Az **Arbovirus ViraChip® IgG tesztkészletet** humán szérummal mint mintával kell elvégezni.
2. A mintavételt egészségügyi szakembernek kell elvégeznie a teljes vérből, a hatályos szabványoknak megfelelően (25).
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 (24).
2. A negatív teszt eredmény nem zárja ki a kórokozóval való érintkezést vagy fertőzést.
3. A specifikus antitestek kimutatása különböző tesztekkel vagy különböző gyártók termékeivel végzett vizsgálatok esetén eltérő eredményekhez vezethet a különböző érzékenységek, specifikitások és vizsgálati módszerek miatt.
4. Immunszuppresszió esetén a vizsgálat értékelhetősége korlátozott (24).

5. A gyógyszerek és az immunglobulin-adagok nem specifikus antitestreakciókat válthatnak ki (24).

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 specifikitása 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 értékelése kizárólag a ViraChip® szoftver segítségével történik. Kézi/vizuális értékelés nem lehetséges.

Irodalom

1. BARDINA, SV et al.: Enhancement of Zika virus pathogenesis by preexisting ant flavivirus immunity, Science, 2017
2. BECK, C et al.: Flaviviruses in Europe: Complex Circulation Patterns and Their Consequences for the Diagnosis and Control of West Nile Disease, Int J Environ Res Public Health, 2013
3. CAMPOS, GS et al.: Zika vírus járvány, Bahia, Brazília, CDC Emerging Infectious Diseases, 2015
4. CDC National Center for Infectious Diseases: Congenital Zika Syndrome & Other Birth Defects Zika Virus, 2022. október 11-i állapot, <https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/testing-follow-up/zika-syndrome-birth-defects.html>, 2022
5. CHARREL, RN et al.: Háttéráttekintés a Zika-vírusfertőzés diagnosztikai tesztjének fejlesztéséhez, Bull World Health Organ, 2016
6. CHO, B et al.: A Chikungunya vírus E1 és E2 burkolófehérjéinek közbeső expressziója és értékelése a Chikungunya vírusfertőzés szerodiagnosztikájához, Yonsei Med J, 2008
7. CRILL, WD & CHANG, GJJ: A flavivirus burkolófehérje keresztreaktív epitópjainak lokalizálása és jellemzése, J Virol, 2004
8. DAI, L et al.: Structures of the Zika Virus Envelope Protein and Its Complex with a Flavivirus Broadly Protective Antibody, Cell Host & Microbe, 2016
9. DOBLER, G, & ASPÖCK, H: A szűnyogok által terjesztett arbovírusok mint az emberre fertőző kórokozók, Denisia, 2010
10. FAYE, O et al.: A Zika-vírus molekuláris evolúciója a 20. században, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2014
11. GIBBS, T & SMITH, DW: Flavivirus laboratóriumi esetdefiníció, Ausztrál Egészségügyi Minisztérium, 2016
12. GUZMAN, MG et al.: Dengue: a continuing global threat, Nat Rev Microbiol, 2010
13. HANG, VT et al.: A NS1 ELISA és a laterális áramlású gyors tesztek diagnosztikai pontossága a dengue-láz érzékenységének, specifikitásának és a vírémia és antitestválaszokhoz való viszonyának vizsgálatában, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2009
14. HAYES, E: Zika vírus Afrikán kívül, CDC Emerging Infectious Diseases, 2009
15. JOHNSON, BW et al.: Laboratory Diagnosis of Chikungunya Virus Infections and Commercial Sources for Diagnostic Assays, Journal of Infectious Diseases, 2016
16. KAM, YW et al.: Longitudinal Analysis of the Human Antibody Response to Chikungunya Virus Infection: Implications for Serodiagnosis and Vaccine Development, Journal of Virology, 2012
17. KLEIN, DE et al.: A dengue-vírus burkolófehérje késői fázisú fúziójának szerkezete, Journal of Virology, 2013
18. WELLINGHAUSEN, N et al.: MiQ 35b: Infektionsimmunologische Methoden - Teil II, ELSEVIER; Urban & Fischer, 2016
19. MODIS, Y et al.: Változó felületi epitópok a dengue-vírus 3-as típusú burkoló glikoprotein kristályszerkezetében, Journal of Virology, 2005
20. RAVULAPALLI, AR et al.: Rekombináns multiepitóp fehérje a dengue-fertőzések korai felismeréséhez, Clinical And Vaccine Immunology, 2006
21. RODRIGUEZ-MORALES, AJ et al.: Az arbovírusok által okozott betegségek terhe a dengue, a chikungunya és a Zika együttes terjedése és együttes fertőzése miatt Amerikában, Travel Medicine and Infectious Disease, 2016
22. SCATURRO, P et al.: A dengue-vírus nem szerkezeti fehérje 1 modulálja a fertőző részecskék termelődését a szerkezeti fehérjékkel való kölcsönhatás révén, PLoS Pathog, 2015
23. SIROHI, D et al.: A Zika-vírus 38 Å felbontású kriogénikus elektronmikroszkopos szerkezete, 352. évfolyam, 2016. szám
24. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
25. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
26. VILLAMIL-GOMEZ, W et al.: Veleszületett chikungunya vírusfertőzés Sinclejo-ban, Kolumbia: esettanulmányok, J Trop Pediatr, 2015

27. VILLAMIL-GOMEZ, W et al.: Diagnosis, management and follow-up of pregnant women with Zika virus infection: a preliminary report of the ZIKERNCOL cohort study on Sincelejo, Colombia, Travel Med Infect, 2016
28. WAHALA, W & DE SILVA, AM: Az emberi antitestek reakciója a dengue-vírusfertőzésre, Viruses, 2011
29. WHO: Chikungunya, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/>, 2017
30. WONG, SJ et al.: Multiplex mikroszféra immunoassay a Zika-vírus diagnosztizálására, EBioMedicine, 2017
31. KAM, YW et al.: A chikungunya vírussal specifikus anti-E2EP3 antitestek szeroprevalenciája és keresztreaktivitása arbovírussal fertőzött betegekben., PLOS Neglected Tropical Diseases, 2015

Szimbólumok magyarázata

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