

# Kit per test IgG Arbovirus ViraChip®

Istruzioni per l'uso



Immunoblot su chip per la rilevazione qualitativa degli anticorpi **IgG** contro specifici antigeni **arbovirus** delle specie virus Zika, virus dengue e virus chikungunya nel siero umano.

Il **kit di test Arbovirus ViraChip®IgG** è un immunoblot basato su un test immunoenzimatico in formato microarray che consente di rilevare anticorpi contro tre diversi arbovirus. A tal fine, antigeni specifici purificati del virus Zika, del virus della dengue e del virus Chikungunya vengono legati in posizioni definite su nitrocellulosa. Gli antigeni specifici purificati comprendono proteine dell'involucro e proteine non strutturali.

Il **kit di test Arbovirus ViraChip®IgG** soddisfa i requisiti degli standard di qualità della direttiva **98/79/CE**.

## Principio del test

Sul fondo di ciascuna cavità di una piastra da microtitolazione standard a 96 pozzetti (MTP) è presente una membrana di nitrocellulosa su cui sono fissati gli antigeni come punti analitici (microarray). Durante l'incubazione del siero, gli anticorpi specifici per gli arbovirus presenti nel siero del paziente si legano agli antigeni fissati sul microarray. Durante l'incubazione del coniugato, il coniugato si lega al complesso antigene-anticorpo. Dopo l'aggiunta della soluzione cromogena/substrato, la fosfatasi alcalina legata all'anticorpo coniugato converte il cromogeno/substrato e colora il complesso antigene-anticorpo sul microarray da viola a nero. Dopo l'incubazione del siero, l'incubazione del coniugato e l'incubazione del cromogeno/substrato, viene eseguita una fase di lavaggio per rimuovere gli anticorpi e i reagenti non legati.

Oltre ai punti analitici, ogni microarray contiene i seguenti punti di controllo: **controlli del siero**, **controlli del coniugato**, **controlli del calibratore** e un **controllo negativo**. I punti analitici servono a rilevare gli anticorpi contro gli antigeni specifici dell'arbovirus:

- gli antigeni del virus Zika contrassegnati con una "Z" **Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII\*, Z-NS1**
- gli antigeni del virus della dengue contrassegnati con una "D-", ovvero **D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII\*, D-NS1** e
- l'antigene del virus Chikungunya **C-E** contrassegnato da una "C-".

In questo modo, con l'approccio di un microarray Arbovirus ViraChip® IgG è possibile rilevare in parallelo anticorpi IgG specifici di tre arbovirus.

Per una chiara identificazione, le cavità sono codificate con colori diversi: l'Arbovirus ViraChip® IgG è contrassegnato da un **cerchio blu** pieno sul bordo della cavità.

Codice articolo: **V-ABCGOK**  
Confezione: **1 MTP da 96 cavità separabili singolarmente**  
Materiale campione: **10 µl di siero**  
Durata del test: **circa 130 minuti**

## Contenuto del kit

|                             |                                                                                                                                                                                             |                      |
|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1 MTP con 96 cavità ABCGAC) | <b>Arbovirus ViraChip® IgG Antigen Coated Wells</b>                                                                                                                                         | (Codice prodotto: V- |
| 12 ml UVCCKI)               | Cavità singole separabili con microarray ViraChip®, pronti all'uso<br><b>ViraChip® AP-Anti-Human IgG Conjugate</b>                                                                          | (Codice articolo: V- |
| 100 ml UVNUWP)              | Soluzione coniugata anti-IgG umana per test ViraChip®, da capra, con fosfatasi alcalina bovina, pronta all'uso<br><b>ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot® Diluente / Tampone di lavaggio</b> | (Codice articolo: V- |
| 12 ml UVCUCS)               | Tampone di lavaggio concentrato per test ViraChip® con detergenti e sali per impedire legami non specifici, 10 volte<br><b>ViraChip® Soluzione cromogena / substrato</b>                    | (Codice articolo: V- |
| 50 ml UVCUPP)               | Soluzione cromogena / substrato per test ViraChip®, con BCIP / NBT, pronta all'uso<br><b>ViraChip® Tampone campione</b>                                                                     | (Codice articolo: V- |
|                             | Tampone campione per test ViraChip®, con latte in polvere, detergenti e sali per impedire legami non specifici, pronto all'uso                                                              |                      |

## Disponibile come optional

|                                 |                                                                                                                      |                      |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------|
| 1 barra MTP da 8 cavità ABCGRT) | <b>Arbovirus ViraChip® IgG Antigen Coated Wells (8)</b>                                                              | (Codice articolo: V- |
| 110 µl ABCGPK)                  | Cavità singole rompibili con microarray ViraChip®, pronto all'uso<br><b>Arbovirus ViraChip® IgG Positive Control</b> | (Codice articolo: V- |
| 330 µl ABCPNK)                  | Siero di controllo IgG positivo, umano, pronto all'uso<br><b>Arbovirus ViraChip® IgG,A,M Controllo negativo</b>      | (Codice articolo: V- |
|                                 | IgG, IgA, IgM siero di controllo negativo, umano, pronto all'uso                                                     |                      |

## Attrezzatura aggiuntiva richiesta

- Software ViraChip®** articolo: V-VCNUPR) per la preparazione, l'esecuzione e la valutazione del test, a partire dalla versione v1.3.0-1960 (Codice
- Scanner di codici a barre 2D** per la lettura dei codici DataMatrix
- Piastra da microtitolazione UVNMTP)** per riempire le barre iniziate della piastra da microtitolazione nel telaio di supporto (Codice articolo: V- con 96 cavità vuote
- Agitatore orbitale (750 rpm) o agitatore lineare (20 Hz)** per la miscelazione di campioni e reagenti durante la lavorazione
- Scanner ViraChip®** V-UVCSA) per la digitalizzazione / misurazione dei test ViraChip® sviluppati, a partire da ViraChip® (codice articolo:

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-2 -

o lettore ViraChip®  
UVCCAM)

Scanner v1.0 o ViraChip® Reader Rev.01

(codice articolo: V-

6. Opzionale: **Ventilatore/ventola**  
rapida delle piastre da microtitolazione sviluppate

per un'asciugatura più

### Preparazione dei reagenti e dei campioni dei pazienti

**Portare tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione confezionata a temperatura ambiente (TA: 20-23 °C) prima dell'uso. Mescolare bene tutti i reagenti prima dell'uso.**

**Diluire il tampone di lavaggio** Diluire il concentrato di tampone di lavaggio 1:10 in acqua distillata o deionizzata (H<sub>2</sub>O), ad esempio: 100 ml di diluizione pronta all'uso: concentrato di tampone di lavaggio + 900 ml di H<sub>2</sub>O

**Tampone campione:** Pronto all'uso

**Soluzione coniugata:** Pronta all'uso

**Cromogeno / soluzione substrato:** Pronto all'uso

**Cavità MTP:** Rimuovere con cautela la piastra da microtitolazione (MTP) dalla confezione e inserire il numero necessario di cavità in un telaio per piastre da microtitolazione vuoto (Preparazione ed esecuzione del test, punto 3). Utilizzare immediatamente le cavità dopo averle estratte dalla confezione. Riporre immediatamente le cavità non utilizzate nella confezione originale, chiuderla ermeticamente e conservarla a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

**Campioni dei pazienti:** I campioni dei pazienti vengono utilizzati in una diluizione 1:76, ad es. **10 µl di campione del paziente + 750 µl di tampone campione**. Per l'elaborazione sono necessari 100 µl del campione diluito.

**Controlli:** Se necessario, il siero di controllo positivo e negativo viene utilizzato in una diluizione 1:16, ad es. **10 µl di siero di controllo + 150 µl di tampone campione**. Durante l'elaborazione vengono utilizzati 100 µl del controllo diluito.

### Struttura dell'Arbovirus ViraChip® IgG Microarray

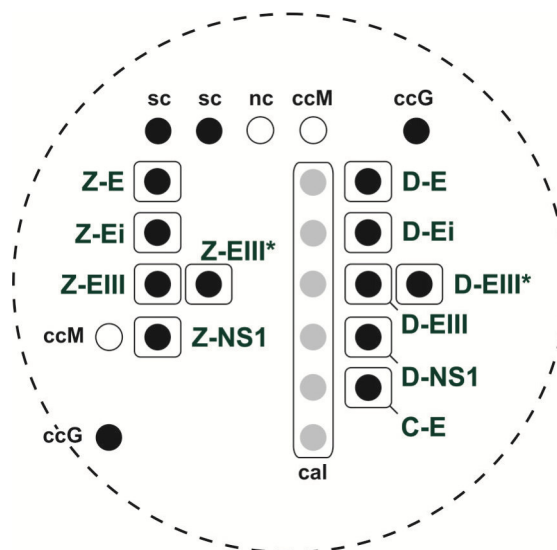
#### Antigeni:

Ogni antigene specifico del virus Zika (**Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII\*** e **Z-NS1**), antigene specifico del virus della dengue (**D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII\*** e **D-NS1**) e ogni antigene specifico del virus Chikungunya (**C-E**) è applicato come singolo spot. Ogni spot corrisponde a una banda nel Western blot / immunoblot.

#### Controlli:

Ogni cavità ViraChip® contiene i seguenti controlli integrati:

due controlli sierici (sc), un controllo negativo (nc), due controlli coniugati IgG (ccG), due controlli coniugati IgM (ccM) e sei controlli calibratori (cal).



**Figura 1:** Immagine di una cavità della piastra da microtitolazione con il microarray Arbovirus ViraChip® IgG (ingrandita). Disposizione dei punti per gli antigeni e dei punti per i controlli integrati.

### Nomenclatura e descrizione degli antigeni arbovirus tratti dalla letteratura

| Arbovirus  | Nomenclatura: | Antigene:     | Osservazioni:                                                                                                                                                                                                          |
|------------|---------------|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Virus Zika | Z-E           | Envelope      | La proteina E del virus Zika costituisce la maggior parte della superficie del virione ed è coinvolta nei processi durante la replicazione, come il legame delle cellule ospiti e la fusione della membrana (10,8,23). |
|            | Z-Ei          | Envelope      | Frammento interno della proteina E del virus Zika.                                                                                                                                                                     |
|            | Z-EIII        | Envelope III  | Regione della proteina E del virus Zika.                                                                                                                                                                               |
|            | Z-EIII*       | Envelope III* | Regione modificata della proteina E del virus Zika.                                                                                                                                                                    |

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-3 -

| Arbovirus          | Nomenclatura: | Antigene:                | Osservazioni:                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------|---------------|--------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                    | Z-NS1         | Proteina non strutturale | NS1 è una grande proteina con diverse funzioni nell'evasione immunitaria, nella patogenesi e nella replicazione virale del virus Zika (3,13).                                                                                |
| Virus della dengue | D-E           | Envelope                 | La proteina E del virus della dengue costituisce la maggior parte della superficie del virione ed è coinvolta in processi durante la replicazione, come il legame con le cellule ospiti e la fusione della membrana (19,17). |
|                    | D-Ei          | Envelope                 | Frammento interno della proteina E del virus della dengue.                                                                                                                                                                   |
|                    | D-EIII        | Envelope III             | Regione della proteina E del virus della dengue.                                                                                                                                                                             |
|                    | D-EIII*       | Envelope III*            | Regione modificata della proteina E del virus della dengue.                                                                                                                                                                  |
|                    | D-NS1         | Proteina non strutturale | NS1 è una grande proteina con diverse funzioni nell'evasione immunitaria, nella patogenesi e nella replicazione virale del virus della dengue (22).                                                                          |
| Virus Chikungunya  | C-E           | Envelope                 | La proteina E è una proteina di fusione che media la fusione della membrana durante l'infezione da virus Chikungunya (6).                                                                                                    |

## Preparazione ed esecuzione del test

In caso di elaborazione automatizzata, i tempi di incubazione, i volumi e la sequenza delle singole fasi di lavoro possono differire dalle istruzioni riportate di seguito. Istruzioni dettagliate passo dopo passo per la soluzione di automazione utilizzata e istruzioni per l'uso del software ViraChip® vengono fornite da Viramed Biotech AG durante la configurazione dei dispositivi e la formazione. Vedere anche la sezione "Note su dispositivi e software".

### 1. Assegnazione

Selezione dei test e inserimento dei dati dei campioni nel piano di occupazione del software ViraChip®.

### 2. Caricamento

Scansione dei codici a barre 2D sulle etichette del kit di test e della piastra da microtitolazione per il trasferimento dei numeri di lotto e dei fattori specifici del lotto (lot specific factors).

### 3. Elaborazione

Eseguire tutte le fasi di elaborazione a temperatura ambiente.

#### 3.1 Preparazione

- Inserire nel telaio di supporto il numero di cavità definito in base all'occupazione.
- Riempire le posizioni vuote di una barra della piastra da microtitolazione nel telaio di supporto con cavità vuote. Le barre sono contrassegnate sulla piastra da microtitolazione con i numeri da 1 a 12.

Assicurarsi che durante la rottura delle barre nessuna particella di plastica cada nelle cavità.

#### 3.2 Preincubazione

- Aggiungere 300 µl di diluizione pronta all'uso del tampone di lavaggio per ogni cavità.
- Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Aspirare il liquido.

#### 3.3 Incubazione del siero

- In base al piano di occupazione, aggiungere 100 µl di campione diluito del paziente o 100 µl di siero di controllo diluito nella cavità corrispondente.
- Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Aspirare il liquido.

#### 3.4 Lavare 3 volte

- Aggiungere 300 µl di tampone di lavaggio pronto all'uso per ogni cavità.
- Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Aspirare il liquido.

#### 3.5 Incubazione del coniugato

- Aggiungere 100 µl di soluzione coniugata per ogni cavità.
- Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Aspirare il liquido.

#### 3.6 Lavare 3 volte

- Aggiungere 300 µl di diluizione pronta all'uso del tampone di lavaggio per ciascuna cavità.
- Incubare per 5 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Aspirare il liquido.

#### 3.7 Lavare 1 volta

- Aggiungere 300 µl di acqua distillata o deionizzata per ogni cavità.
- Incubare per 1 minuto a temperatura ambiente.
- Aspirare il liquido.

#### 3.8 Incubazione del substrato

- Aggiungere 100 µl di soluzione cromogena/substrato per ogni cavità.
- Incubare per 15 minuti a temperatura ambiente sull'agitatore.
- Interrompere: aspirare il liquido.

#### 3.9 Lavare 3 volte

- Aggiungere 300 µl di acqua distillata o deionizzata in ciascuna cavità.
- Nessuna incubazione intermedia.
- Aspirare il liquido.

Regolare gli aghi di aspirazione o utilizzare le pipette in modo tale da non danneggiare il fondo delle cavità.

Durante le fasi di incubazione, i fondi delle cavità devono essere completamente coperti di liquido.

Durante le fasi di incubazione e lavaggio, utilizzare un agitatore orbitale regolabile a una frequenza di circa 750 rpm o un agitatore lineare regolabile a una frequenza di circa 20 Hz.

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-5 -

### 3.10 Asciugare le cavità

Lasciare asciugare per 20 minuti con umidità massima del 60% sotto flusso d'aria continuo.

In caso di umidità dell'aria più elevata, il tempo di asciugatura può prolungarsi. In alternativa, lasciare asciugare per 12 ore al riparo dalla luce a temperatura ambiente.

## 4. Scansione

Misurare i microarray ViraChip® con lo scanner ViraChip® o il lettore ViraChip®.

Le misurazioni dei microarray ViraChip® devono essere effettuate entro 24 ore dalla lavorazione (conservare la piastra da microtitolazione al riparo dalla luce). Per le istruzioni dettagliate, consultare il manuale dell'apparecchio.

## 5. Analisi

### 5.1 Verificare l'assegnazione degli spot antigenici e degli spot di controllo (convalidare tecnicamente)

Ogni spot viene automaticamente assegnato dal software ViraChip® allo spot antigenico o allo spot di controllo corrispondente in base alla sua posizione. L'assegnazione automatica deve essere verificata visivamente con il modello riportato nella Fig. 1. Le assegnazioni che non corrispondono al modello riportato devono essere contrassegnate come "non valide" nel campo "QC". Il campione corrispondente deve essere ripetuto.

### 5.2 Controllo di validità

La verifica di validità viene eseguita automaticamente dal software ViraChip®.

Un microarray ViraChip® è valido se i seguenti spot di controllo soddisfano i criteri memorizzati nel software ViraChip®:

- **Controlli sierici** (sc) oltre il valore limite
- **Controlli coniugati IgG** (ccG) al di sopra del valore limite  
I controlli coniugati IgG devono reagire in modo più forte rispetto ai controlli delle altre classi di coniugati.
- **Controlli calibratore** (cal) al di sopra del valore limite
- **Controllo negativo** (nc) al di sotto del valore limite

Se uno dei criteri sopra indicati non è soddisfatto, "microarray ViraChip® viene classificato come "non valido". I microarray ViraChip® non validi non devono essere valutati e devono essere ripetuti.

### 5.3 Valutazione dei microarray ViraChip®

La valutazione dei campioni dei pazienti viene eseguita automaticamente dal software ViraChip® in base ai criteri di valutazione definiti di seguito:

Le unità ViraChip® di ogni spot vengono calcolate dal software ViraChip® tenendo conto dei fattori specifici del lotto rispetto ai controlli del calibratore.

## Criteri di valutazione

| Unità ViraChip® degli spot                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Risultato                                                                                           | Valutazione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>degli antigeni <b>del virus Zika</b>:</p> <p>dello spot <b>Z-NS1</b><br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip®<br/> o<br/> almeno <b>due</b> antigeni Spot<br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip® da: Z-E, Z-Ei, Z-EIII, Z-EIII*</p> <p><b>Nessuno spot</b><br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip®<br/> o<br/> tutte le altre combinazioni</p>    | <p><b>positivo per il virus Zik</b></p> <p><b>Negativo per il virus Zika</b></p>                    | <p>Anticorpi IgG specifici contro il <b>virus Zika</b> rilevabili. È <b>probabile</b> un'infezione da <b>virus Zika</b>.</p> <p>Nessun anticorpo IgG specifico contro gli antigeni <b>del virus Zika</b> rilevabile. In caso di sospetta infezione recente, eseguire un ulteriore test per gli anticorpi IgM e dopo 2-3 settimane esaminare un secondo campione per gli anticorpi IgM e IgG.</p>                                       |
| <p>Antigeni <b>del virus della dengue</b>:</p> <p><b>D-NS1 Spot</b><br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip®<br/> o<br/> almeno <b>due</b> spot antigenici<br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip® -da:<br/> D-E, D-Ei, D-EIII, D-EIII*</p> <p><b>Nessun spot</b><br/> <math>\geq 100</math> unità ViraChip®<br/> o<br/> tutte le altre combinazioni</p> | <p><b>o positivo per il virus della dengue</b></p> <p><b>Negativo per il virus della dengue</b></p> | <p>Anticorpi IgG specifici contro l'antigene <b>del virus della dengue</b> rilevabili. È <b>probabile</b> un'infezione da <b>virus della dengue</b>.</p> <p>Nessun anticorpo IgG specifico contro gli antigeni <b>del virus della dengue</b> rilevabile. In caso di sospetta infezione recente, eseguire un ulteriore test per gli anticorpi IgM e, dopo 2-3 settimane, esaminare un secondo campione per gli anticorpi IgM e IgG.</p> |

|                                                                                                     |                                          |                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| dell'antigene del <b>virus Chikungunya</b> :<br><br><b>C-E Spot</b><br><b>≥ 100 unità ViraChip®</b> | <b>Positivo per il virus Chikungunya</b> | Anticorpi IgG specifici contro l'antigene dell'involucro <b>del virus Chikungunya</b> rilevabili. È <b>probabile</b> un'infezione da <b>virus Chikungunya</b> .                                                                                                                     |
| il <b>C-E Spot</b><br><b>&lt; 100 unità ViraChip®</b>                                               | <b>Negativo per il virus Chikungunya</b> | Non sono rilevabili anticorpi IgG specifici contro l'antigene dell'involucro <b>del virus Chikungunya</b> . In caso di sospetta infezione recente, eseguire un ulteriore test per gli anticorpi IgM e dopo 2-3 settimane esaminare un secondo campione per gli anticorpi IgM e IgG. |

## Significato diagnostico degli anticorpi arbovirus

### 1. Informazioni generali

I virus Zika, Dengue e Chikungunya sono arbovirus patogeni per l'uomo, trasmessi principalmente dalle zanzare (genere Aedes). I virus Zika e dengue appartengono alla famiglia dei flavivirus (genere Flavivirus), mentre il virus Chikungunya appartiene alla famiglia dei togavirus (genere Alphavirus) (9). Sia la stretta parentela genetica che l'area di diffusione sovrapposta di questi virus rendono difficile la differenziazione sierologica.

Una diagnosi affidabile è ulteriormente complicata dal fatto che molti flavivirus (come il virus Zika e il virus della dengue) provocano sintomi simili o nessun sintomo e che gli anticorpi dei pazienti infetti dal virus Zika possono reagire in modo incrociato con altri flavivirus (30). Inoltre, si sospetta che le infezioni da virus Zika o da virus Chikungunya durante la gravidanza rappresentino un rischio per il feto (26,27,4).

### 2. Anticorpi del virus Zika

**a) Gli anticorpi IgG** si formano entro pochi giorni dagli anticorpi IgM e possono essere rilevati da mesi a anni dopo l'infezione (5) o persistere per tutta la vita (18).

**b) Gli anticorpi IgM** compaiono solitamente pochi giorni dopo l'insorgenza della malattia (14,5) e possono essere rilevati fino a tre mesi dopo. Nella maggior parte dei casi, gli anticorpi IgM scompaiono già 4-8 settimane dopo la comparsa dei sintomi (18), ma ci sono anche pazienti in cui gli anticorpi IgM sono stati rilevati più a lungo (5).

Di norma, gli anticorpi IgM sono rilevabili in caso di infezione recente (18) e possono quindi essere interpretati come sintomo di un'infezione acuta.

### 3. Anticorpi del virus della dengue

**a) Gli anticorpi IgG** in caso di infezione primaria compaiono solitamente circa una settimana dopo l'insorgenza della malattia, raggiungono il loro picco alcune settimane dopo l'infezione, diminuiscono leggermente e persistono per decenni o più a lungo (28).

Caratteristica di un'infezione secondaria da virus dengue è la comparsa di anticorpi IgG anti-dengue ad alto titolo prima o contemporaneamente alla comparsa degli anticorpi IgM (20).

**b) Gli anticorpi IgM** in caso di infezione primaria compaiono già 3-5 giorni dopo l'insorgenza della malattia. Raggiungono il loro picco circa 2 settimane dopo l'infezione e poi diminuiscono (20).

Nelle infezioni primarie e secondarie da virus della dengue, la cinetica della formazione di anticorpi IgM è simile (20). Tuttavia, i titoli anticorpali IgM nelle infezioni secondarie sono solitamente

significativamente più bassi (20) e possono anche essere completamente assenti (11), portando così a risultati falsi negativi (18). A causa della stretta parentela, nelle infezioni secondarie da flavivirus come il virus Zika il comportamento può essere simile.

### 4. Anticorpi del virus Chikungunya

**a) Gli anticorpi IgG** possono essere rilevati già a partire dal settimo giorno di malattia (18) e persistono per alcuni mesi (16). Un aumento di almeno 4 volte degli anticorpi IgG in due campioni consecutivi del paziente è considerato prova di infezione (18).

**b) Gli anticorpi IgM** possono essere rilevati nel siero del paziente già nella fase acuta della malattia (16), al più tardi 5-7 giorni dopo l'insorgenza della malattia (18,15). I titoli anticorpali IgM raggiungono il picco massimo da 3 a 5 settimane dopo l'insorgenza della malattia e persistono per circa 2 mesi (29). La sola rilevazione di anticorpi IgM è considerata indicativa di un'infezione acuta, ma deve essere confermata da un controllo nel corso della malattia (18).

**5.** Per tutti gli arbovirus, la proteina E dell'involucro (Envelope Protein, E-Protein) rappresenta un bersaglio primario per la risposta immunitaria degli anticorpi neutralizzanti. Studi recenti dimostrano che la proteina E del virus Zika è molto simile a quella del virus della dengue e del virus del Nilo occidentale (1,12). La proteina E è considerata altamente specifica, in particolare per il virus Chikungunya (6).

**6.** Sono state descritte reattività crociate tra i rispettivi antigeni virali in caso di infezioni da virus Zika, dengue, West Nile, febbre gialla, encefalite giapponese, FSME e chikungunya (31,12,7). Nelle aree in cui sono endemici due o più arbovirus, le infezioni multiple e sequenziali rendono difficile la diagnosi differenziale a causa della presenza di anticorpi specifici per arbovirus già esistenti (7,30).

**7.** Dopo un'infezione primaria, il decorso di una seconda infezione con un virus antigenicamente correlato può essere aggravato dalla presenza di anticorpi interspecie e cross-reattivi (1,2,21).

**8.** Stimolazioni policlonali causate da altre infezioni virali, come ad esempio l'EBV, possono portare a reazioni anticorpali positive sul kit di test Arbovirus ViraChip®IgG 2.0.

**9.** Nella valutazione e nella successiva interpretazione del test è necessario tenere conto di un precedente contatto del paziente con arbovirus durante viaggi o soggiorni prolungati in aree endemiche.

## Dati prestazionali

### Sensibilità

Campioni di siero con sospetto clinico di infezione da virus Zika, virus Dengue e/o virus Chikungunya sono stati analizzati con Arbovirus ViraChip® IgG per gli anticorpi IgG contro il virus Zika, il virus Dengue e il virus Chikungunya. I risultati sono riportati nelle tabelle 1a, 1b e 1c.

| Campioni di siero                 | Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Zika Risultato |          |          |               |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|----------|----------|---------------|
|                                   | Totale                                         | Positivo | Negativo | % Sensibilità |
| Virus Zika clinicamente definito* | 25                                             | 25       | 0        | 100% (25/25)  |

**Tabella 1a: Campioni di siero con infezione da virus Zika definita clinicamente. Arbovirus ViraChip® IgG – Risultati relativi al virus Zika.**

| Campioni di siero | Arbovirus ViraChip® IgG – Risultato del virus della dengue |          |          |               |
|-------------------|------------------------------------------------------------|----------|----------|---------------|
|                   | Totale                                                     | Positivo | Negativo | % Sensibilità |

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-7 -

|                                           |    |    |   |             |
|-------------------------------------------|----|----|---|-------------|
| Virus della dengue clinicamente definito* | 12 | 11 | 1 | 92% (11/12) |
|-------------------------------------------|----|----|---|-------------|

**Tabella 1b: Campioni di siero con infezione da virus della dengue definita clinicamente. Arbovirus ViraChip® IgG – Risultati relativi al virus della dengue.**

| Campioni di siero                        | Arbovirus ViraChip® IgG – Risultato del virus Chikungunya |          |          |              |
|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|----------|----------|--------------|
|                                          | Totale                                                    | Positivo | Negativo | Sensibilità  |
| Virus Chikungunya clinicamente definito* | 20                                                        | 20       | 0        | 100% (20/20) |

**Tabella 1c: Campioni di siero con infezione da virus Chikungunya definita clinicamente. Arbovirus ViraChip® IgG – Risultati relativi al virus Chikungunya.**

\*) Non sono disponibili informazioni su infezioni multiple con lo stesso arbovirus o con altri arbovirus.

### Specificità

Per determinare la specificità analitica, sono stati analizzati 84 campioni di donatori di sangue provenienti dalla Germania (regione non endemica) e 14 campioni di donne in gravidanza provenienti dalla Germania (regione non endemica) con Arbovirus ViraChip® IgG per gli anticorpi IgG contro il virus Zika, il virus della dengue e il virus Chikungunya. I risultati sono riportati nelle tabelle 2a, 2b e 2c.

| Campioni di siero                 | Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Zika Risultato |          |          |            |               |
|-----------------------------------|------------------------------------------------|----------|----------|------------|---------------|
|                                   | Totale                                         | Negativo | Positivo | % Positivo | % Specificità |
| Donatori di sangue (non endemici) | 84                                             | 81       | 3        | 4          | 96% (81/84)   |
| Donne incinte (non endemico)      | 14                                             | 14       | 0        | 0          | 100% (14/14)  |
| Totale                            | 98                                             | 95       | 3        | 3          | 97% (95/98)   |

**Tabella 2a: Specificità nei donatori di sangue provenienti dalla Germania (regione non endemica) e nelle donne in gravidanza provenienti dalla Germania (regione non endemica). Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Zika Risultati.**

| Campioni di siero                 | Arbovirus ViraChip® IgG – Virus della dengue Risultato |          |          |            |               |
|-----------------------------------|--------------------------------------------------------|----------|----------|------------|---------------|
|                                   | Totale                                                 | Negativo | Positivo | % Positivo | % Specificità |
| Donatori di sangue (non endemici) | 84                                                     | 81       | 3        | 4          | 96% (81/84)   |
| Donne incinte (non endemico)      | 14                                                     | 13       | 1        | 7          | 93% (13/14)   |
| Totale                            | 98                                                     | 94       | 4        | 4          | 96% (94/98)   |

**Tabella 2b: Specificità nei donatori di sangue provenienti dalla Germania (regione non endemica) e nelle donne in gravidanza provenienti dalla Germania (regione non endemica). Arbovirus ViraChip® IgG – Risultati relativi al virus della dengue.**

| Campioni di siero                 | Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Chikungunya Risultato |          |          |            |               |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------|----------|----------|------------|---------------|
|                                   | Totale                                                | Negativo | Positivo | % Positivo | % Specificità |
| Donatori di sangue (non endemici) | 84                                                    | 84       | 0        | 0          | 100% (84/84)  |
| Donne incinte (non endemico)      | 14                                                    | 13       | 1        | 7          | 93% (13/14)   |
| Totale                            | 98                                                    | 97       | 1        | 1          | 99% (97/98)   |

**Tabella 2c: Specificità nei donatori di sangue provenienti dalla Germania (regione non endemica) e nelle donne incinte provenienti dalla Germania (regione non endemica). Arbovirus ViraChip® IgG – Virus Chikungunya Risultati.**

### Requisiti per l'utente

1. Questo test deve essere eseguito solo in un laboratorio specializzato che disponga delle attrezzature di laboratorio adeguate (ad es. secondo le "Buone Pratiche di Laboratorio", GLP) e delle autorizzazioni ufficiali eventualmente necessarie per la manipolazione dei campioni da analizzare.

2. Per ottenere un risultato accurato, è necessario attenersi alle istruzioni per l'uso e alle GLP.

3. Questo test deve essere eseguito solo da personale specializzato che abbia ricevuto una formazione specifica sulla procedura di test.

### Conservazione e durata dei reagenti

1. **Microarray ViraChip®**: conservabili nella confezione originale sigillata a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C fino alla data di scadenza.

2. **Tampone di lavaggio concentrato, 10 volte**: conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza.

3. **Diluente pronto all'uso del tampone di lavaggio**: conservabile a 2-8 °C per circa 2 settimane. Per una conservazione più lunga, il diluente pronto all'uso può essere congelato in aliquote a -20 °C.

4. **Tampone campione**: conservabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza.

5. **Soluzione coniugata**: conservabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza.

6. **Soluzione cromogena/substrato**: conservare a 2-8 °C fino alla data di scadenza. Proteggere dalla luce!

7. Dopo la prima apertura dei reagenti e dei componenti del kit, se utilizzati correttamente ("Good Laboratory Practice") e conservati nella confezione originale secondo le condizioni di conservazione indicate sull'etichetta, la durata di conservazione è generalmente mantenuta fino alla data di scadenza indicata.

### Precauzioni / Misure di sicurezza

2792\_Arbovirus\_ViraChip\_IgG\_2.0\_AL\_de\_RevB

© Copyright VIRAMED Biotech AG gennaio 2024 0122/0835

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-8 -

1. Tutti i componenti del siero umano sono stati testati per gli anticorpi HCV, HIV1,2 e l'antigene HBs e sono risultati negativi. Tuttavia, tutti i componenti umani del kit, così come i campioni dei pazienti, devono essere considerati potenzialmente infettivi e utilizzati con le dovute precauzioni. Quando si lavora con materiali potenzialmente pericolosi o infettivi, è necessario rispettare le leggi, i regolamenti e le norme nazionali/internazionali applicabili. Ciò vale anche per lo stoccaggio e lo smaltimento dei prodotti chimici e dei reagenti utilizzati.

2. Le misure di protezione per lavorare con sostanze pericolose e biologiche devono essere rispettate in conformità con le direttive nazionali attualmente in vigore per i laboratori. Le misure includono:

- Non pipettare con la bocca.
- Indossare guanti monouso e occhiali protettivi/protezione per il viso.
- Non mangiare, bere o fumare sul posto di lavoro.

3. Evitare il contatto della pelle e delle mucose con il cromogeno / la soluzione substrato. In caso di contatto con la pelle e gli occhi, sciacquare immediatamente con abbondante acqua.

4. I campioni e tutti i materiali potenzialmente contaminati, nonché i rifiuti liquidi infettivi, devono essere decontaminati secondo le linee guida di laboratorio generalmente riconosciute, ad esempio mediante sterilizzazione in autoclave per almeno 20 minuti a 121 °C. Per lo smaltimento dei rifiuti liquidi, questi possono essere miscelati, ad esempio, con ipoclorito di sodio in un rapporto volumetrico tale che la miscela finale contenga l'1% di ipoclorito di sodio. Lasciare agire per 30 minuti per una disinfezione completa.

5. Le informazioni sui possibili pericoli, le misure di primo soccorso, le misure da adottare in caso di rilascio accidentale di grandi quantità, la manipolazione e lo stoccaggio, i dispositivi di protezione individuale, le indicazioni per lo smaltimento e le informazioni tossicologiche sono documentate nelle schede di sicurezza.

6. Evitare che polvere e altre impurità entrino nelle cavità dell'MTP, poiché ciò potrebbe compromettere la validità dei risultati.

## Prelievo, manipolazione e conservazione del campione del paziente

1. Il kit di analisi Arbovirus ViraChip® IgG deve essere utilizzato con siero umano come materiale campione.

2. Il prelievo del campione deve essere effettuato da personale medico qualificato secondo gli standard vigenti su sangue intero (25).

3. I campioni pretrattati con il calore, emolitici, itterici o lipemici possono portare a risultati non validi.

4. I campioni non devono essere contaminati da microrganismi.

5. Di norma, i campioni non diluiti possono essere conservati fino a 5 giorni a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C

. Per una conservazione fino a 24 mesi, i campioni devono essere congelati in aliquote ad almeno -20 °C.

6. Prima di iniziare il test, i campioni devono essere portati a temperatura ambiente. Dopo lo scongelamento, mescolare delicatamente i campioni e, se necessario, rimuovere le particelle visibili mediante centrifugazione.

7. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni.

## Limiti della procedura di analisi

1. Un risultato positivo del test sul campione del paziente deve essere considerato un sintomo. L'interpretazione e la valutazione dei risultati del test devono essere effettuate solo da personale medico specializzato, tenendo conto di tutti i dati rilevanti (24).

2. Un risultato negativo del test non esclude il contatto con l'agente patogeno o un'infezione.

3. La rilevazione di anticorpi specifici può portare a risultati diversi se effettuata con test diversi o di produttori diversi a causa delle diverse sensibilità, specificità e metodologie di test.

4. In caso di immunosoppressione, la valutabilità è limitata (24).

5. I farmaci e le somministrazioni di immunoglobuline possono provocare reazioni anticorpali non specifiche (24).

6. I dispositivi diagnostici *in vitro* non devono essere utilizzati oltre la data di scadenza indicata, poiché in tal caso non è più possibile garantire risultati affidabili.

7. Il rispetto rigoroso delle istruzioni operative è essenziale per ottenere risultati accurati. Un'esecuzione inadeguata delle fasi di lavaggio può causare risultati errati.

8. Non è consentito l'approccio dei campioni pool, in cui vengono esaminati contemporaneamente più sieri, poiché in tali approcci la sensibilità e la specificità del test possono essere compromesse.

## Note relative alle apparecchiature e al software

1. In caso di esecuzione automatizzata, è necessario programmare e utilizzare fasi di lavoro validate da Viramed Biotech AG per il rispettivo tipo di processore.

2. Se si utilizzano materiali di consumo specifici per il processore, le relative configurazioni devono essere approvate da Viramed Biotech AG secondo le indicazioni del produttore.

3. La configurazione dell'apparecchio e del software fornita da Viramed Biotech AG non deve essere modificata. Qualsiasi modifica può causare risultati errati.

4. È consentito utilizzare esclusivamente software specifico per l'apparecchio. Le modifiche ai file di configurazione possono essere effettuate solo da Viramed Biotech AG.

5. Come strumenti di misura devono essere utilizzati esclusivamente sistemi approvati da Viramed Biotech AG.

6. La valutazione dei microarray ViraChip® avviene esclusivamente tramite il software ViraChip®. Non è possibile effettuare una valutazione manuale/visiva.

## Bibliografia

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 virus outbreak, Bahia, Brazil, CDC Emerging Infectious Diseases, 2015
4. CDC National Center for Infectious Diseases: Sindrome congenita da Zika e altri difetti congeniti causati dal virus Zika, aggiornato all'11 ottobre 2022, <https://www.cdc.gov/pregnancy/zika/testing-follow-up/zika-syndrome-birth-defects.html>, 2022
5. CHARREL, RN et al.: Background review for diagnostic test development for Zika virus infection, Bull World Health Organ, 2016
6. CHO, B et al.: Espressione intermedia e valutazione delle proteine dell'involucro E1 ed E2 del virus Chikungunya per la sierodiagnosi dell'infezione da virus Chikungunya, Yonsei Med J, 2008
7. CRILL, WD & CHANG, GJJ: Localizzazione e caratterizzazione degli epitopi cross-reattivi delle glicoproteine dell'involucro del flavivirus, 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: Arbovirus trasmessi dalle zanzare come agenti patogeni di infezioni nell'uomo, Denisia, 2010
10. FAYE, O et al.: Evoluzione molecolare del virus Zika durante la sua comparsa nel XX secolo, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2014
11. GIBBS, T & SMITH, DW: Definizione di caso di laboratorio per i flavivirus, Dipartimento della Salute del Governo Australiano, 2016
12. GUZMAN, MG et al.: Dengue: una minaccia globale continua, Nat Rev Microbiol, 2010
13. HANG, VT et al.: Accuratezza diagnostica dei test rapidi NS1 ELISA e Lateral Flow per la dengue: sensibilità, specificità e relazione con la viremia e le risposte anticorpali, PLOS Neglected Tropical Diseases, 2009
14. HAYES, E: Zika Virus Outside Africa, CDC Emerging Infectious Diseases, 2009

## Arbovirus ViraChip® Kit per test IgG

-9 -

15. JOHNSON, BW et al.: Diagnosi di laboratorio delle infezioni da virus Chikungunya e fonti commerciali per i test diagnostici, Journal of Infectious Diseases, 2016
16. KAM, YW et al.: Analisi longitudinale della risposta anticorpale umana all'infezione da virus Chikungunya: implicazioni per la sierodiagnosi e lo sviluppo di vaccini, Journal of Virology, 2012
17. KLEIN, DE et al.: Struttura di una proteina dell'involucro del virus della dengue in fase avanzata di fusione, Journal of Virology, 2013
18. WELLINGHAUSEN, N et al.: MiQ 35b: Metodi immunologici di infezione - Parte II, ELSEVIER; Urban & Fischer, 2016
19. MODIS, Y et al.: Epitopi superficiali variabili nella struttura cristallina della glicoproteina dell'involucro del virus della dengue di tipo 3, Journal of Virology, 2005
20. RAVULAPALLI, AR et al.: Proteina multiepitopica ricombinante per la diagnosi precoce delle infezioni da dengue, Clinical And Vaccine Immunology, 2006
21. RODRIGUEZ-MORALES, AJ et al.: Il carico arbovirale della malattia causata dalla co-circolazione e dalla co-infezione di dengue, chikungunya e Zika nelle Americhe, Travel Medicine and Infectious Disease, 2016
22. SCATURRO, P et al.: La proteina non strutturale 1 del virus della dengue modula la produzione di particelle infettive attraverso l'interazione con le proteine strutturali, PLoS Pathog, 2015
23. SIROHI, D et al.: La struttura criomicroscopica a risoluzione 38 Å del virus Zika, Vol 352, Numero, 2016
24. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
25. TUCK, MK et al.: Procedure operative standard per la raccolta di siero e plasma, J Proteome Res, 2009
26. VILLAMIL-GOMEZ, W et al.: Infezione congenita da virus chikungunya a Sincelejo, Colombia: una serie di casi, J Trop Pediatr, 2015
27. VILLAMIL-GOMEZ, W et al.: Diagnosi, gestione e follow-up delle donne in gravidanza con infezione da virus Zika: relazione preliminare dello studio di coorte ZIKERNCOL su Sincelejo, Colombia, Travel Med Infect, 2016
28. WAHALA, W & DE SILVA, AM: La risposta anticorpale umana all'infezione da virus dengue, Viruses, 2011
29. OMS: Chikungunya, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs327/en/>, 2017
30. WONG, SJ et al.: Un test immunologico multiplex con microsferi per la diagnosi del virus Zika, EBioMedicine, 2017
31. KAM, YW et al.: Sero-prevalence and cross-reactivity of chikungunya virus specific anti-E2EP3 antibodies in arbovirus-infected patients., PLOS Neglected Tropical Diseases, 2015

## Legenda

|                                                                                     |                                         |                                                                                     |                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|   | Produttore                              |    | Numero d'ordine                         |
|  | Attenersi alle istruzioni per l'uso     |  | Utilizzabile fino al / Data di scadenza |
|  | Dispositivo diagnostico <i>in vitro</i> |  | Limiti di temperatura (conservazione)   |
|  | Numero di lotto                         |  | Siero di controllo positivo             |
|  | Sufficiente per 96 preparazioni         |  | Siero di controllo negativo             |