

CYTOMEGALOVIRUS VIRCLIA® IgM MONOTEST



VCM022



Für die *In-vitro*-Diagnostik

ZWECKBESTIMMUNG

Capture Chemilumineszenz Immunoassay (CLIA) zum Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Zytomegalie-Virus in menschlichem Serum/Plasma.

Bei diesem Test handelt es sich um einen automatischen, qualitativen Test zur Diagnosehilfe.

EINLEITUNG

Zytomegalie-Virus (CMV) gehört zur Familie der Herpes-Viren und kennzeichnet sich nach der Primärinfektion durch die Präsenz einer latenten Infektion. Es ist ein wichtiger Erreger kongenitaler Krankheiten und kann bei Transplantatempfängern und Aids-Kranken zu schwerer Erkrankung führen. Eine Primärinfektion oder Reaktivierung einer latenten Infektion während der Schwangerschaft kann auf den Fetus oder bei der Geburt auf das Kind übertragen werden. Pränatal infizierte Kinder können schwere neurologische Folgeerscheinungen entwickeln. Die Primärinfektion bei Erwachsenen kann asymptomatisch erfolgen oder verschiedene Syndrome wie Mononukleose, Hepatitis oder Pneumonitis hervorrufen. Die Präsenz einer aktiven Infektion durch CMV ist durch serologische Methoden festzustellen und muss durch virale Isolierung, Antigenidentifizierung oder Nukleinsäuren des Virus bestätigt werden. Von allen bei der CMV-Diagnose eingesetzten serologischen Techniken wird ELISA wegen seiner hohen Sensibilität und einfachen Handhabung am häufigsten verwendet.

Auf Chemilumineszenz basierende Nachweismethoden finden aufgrund ihres niedrigen Hintergrundes, ihrer Linearität und ihres weiten dynamischen Bereichs große Beachtung. Bei Kopplung mit Enzymimmunoassays ermöglicht die vom Enzym ausgehende Signalverstärkung die Schaffung eines CLIA-Tests (Chemilumineszenz-ImmunoAssay) mit kürzeren Inkubationszeiten, während die Empfindlichkeit erhalten oder gar verbessert wird.

PRÜFGRUNDSATZ

Die CLIA-Methode basiert auf dem Einfangen von IgM, das im Test in Form von IgM-Antikörpern vorliegt, die an die Oberfläche von Polystyrol gebunden sind. Ungebundene Immunglobuline werden beim Waschvorgang eliminiert. In einem späteren Schritt reagiert das Peroxidase-gekoppelte Antigen mit dem gebundenen IgM, alles ungebundene IgM wird mit den Waschprozessen entfernt; Das gebundene Antigen reagiert mit einer chemilumineszierenden Substratlösung. Dies erzeugt eine "Helligkeitstyp"-Lumineszenz, die mit einem Luminometer abgelesen werden kann.

EIGENSCHAFTEN DES KITS

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Serumverdünnungspuffer und Konjugat sind gefärbt, um die Abarbeitung des Kits zu erleichtern.

Eine Probenverdünnung ist nicht notwendig.

Die zur Durchführung des Tests erforderlichen Reagenzien werden in der Monodosi-Packung mitgeliefert.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

[1] VIRCLIA® CYTOMEGALOVIRUS IgM MONODOSE: 24 Monodosen bestehend aus 3 Reaktionsvertiefungen und 5 Reagenzvertiefungen mit folgender Zusammensetzung:

Vertiefungen A, B, C: Reaktionsvertiefungen; Vertiefungen beschichtet mit Anti-IgM-Antikörper (µ-spezifisch). Enthält Material tierischen Ursprungs.

Vertiefung D: Konjugat: Orange; enthält Zytomegalie-Virus-Antigene-Peroxidasekonjugat-Verdünnungsmittel und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel. Enthält inaktiviertes Antigen. Enthält Material tierischen Ursprungs.

Vertiefung E: Serum-Verdünnungslösung: blau; Phosphat-Puffer, der Protein stabilisier und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material tierischen Ursprungs.

Vertiefung F: Kalibrator: durchsichtig; positive Serum-Verdünnungslösung, die 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.

Vertiefung G: Substratkomponente B: durchsichtig; enthält Peroxid.

Vertiefung H: Substratkomponente A: durchsichtig; enthält Luminol.

Spezielle Materialien, die benötigt, aber nicht mitgeliefert werden:

-VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS (REF:VCMAR).

-Automatischer CLIA-Prozessor.

LAGERUNGS- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Das Verfallsdatum der Reagenzien ist nur gültig bei Lagerung in gut verschlossenem Zustand bei 2-8°C.

HALTBARKEIT NACH ANBRUCH

VIRCLIA® MONODOSE: Nach dem Öffnen am gleichen Tag verwenden.

Die Substratkomponente A ist lichtempfindlich. Vor Lichteinstrahlung schützen. Die Substratlösungen sollten nicht mit Säure, brennbaren Materialien und starken Oxidations- oder Reduktionsmitteln in Kontakt kommen. Stellen Sie sicher, dass keine metallischen Teile mit dem Substrat in Kontakt kommen, ohne dass deren Kompatibilität zuvor getestet wurde.

VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

WARNUNGEN UND VORSICHTSHINWEISE

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.

2. Das Produkt sollte auf Personal begrenzt werden, das in der Technik geschult wurde.

3. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.

4. Verwenden Sie nur die in dieser Broschüre beschriebenen Protokolle. Wenn die Bedingungen nicht den Angaben entsprechen, sind die Ergebnisse möglicherweise falsch.

5. Tragen Sie beim Umgang mit Proben und Reagenzien persönliche Schutzausrüstung. Waschen Sie Ihre Hände beim Umgang mit Proben und Reagenzien gründlich. Alle Verfahren müssen in Übereinstimmung mit den genehmigten Sicherheitsstandards durchgeführt werden.

6. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.

7. Nicht mit dem Mund pipettieren.

8. Keine beschädigten Kits verwenden.

9. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.

10. Wenn der Test oder seine Elemente im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor der Verwendung Raumtemperatur haben.

11. Lassen Sie die Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich auf einer anderen Temperatur als empfohlen.

12. Halten Sie Behälter für Proben und Reagenzien geschlossen, wenn diese nicht bearbeitet werden.

13. Vermeiden Sie die Verwendung von Proben, die wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen ausgesetzt sind.

14. Verwenden unter aseptischen Bedingungen, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden.

15. Das Reagenz in diesem Kit könnte Substanzen tierischen Ursprungs und/oder humanen Ursprungs und/oder inaktiviertes Antigen enthalten (siehe „Mitgelieferte Materialien“). Obwohl Material menschlichen Ursprungs auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Hepatitis C-Antikörper und Human Immunodeficiency Virus-Antikörper getestet und für negativ befunden wurde, sollten alle Patientenmaterialien und -proben als potenziell infektiös gehandhabt werden und unter Verwendung von Sicherheitslaborverfahren beseitigt werden. Keine aktuelle Methode kann eine vollständige Garantie dafür bieten, dass diese oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Nicht verwendete Reagenzien und Abfälle gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgen.


16. Nur Kit-Bestandteile verwenden. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargennummer oder von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden. Nur Bestandteile des VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS Hilfsreagenzien-Kits sind mit allen VIRCLIA®-Referenznummern und -Chargen kompatibel.

17. Verwenden Sie dieses Produkt nicht zusammen mit automatisierten Prozessoren, es sei denn sie wurden zuvor für diesen Zweck validiert.

18. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

Sicherheitsvorkehrungen.

Beachten Sie die folgenden Sicherheitshinweise: Für weitere Informationen steht ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung.

Mitgelieferte Materialien	Gefährliche Inhaltsstoffe:	Gefahrenhinweise (CLP):
[1] VIRCLIA® CYTOMEGALOVIRUS IgM MONODOSE	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
Gefahrenhinweise (CLP):	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.	
Gefahrenpiktogramme (CLP):		
CLP Signalwort:	Achtung	
Sicherheitshinweise (CLP):	P261 – Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden. P272 – Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P302+P352 – Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser waschen. P321 – Sonderbehandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Etikett). P333+P313 – Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.	

BEDINGUNGEN FÜR DIE ENTNAHME, BEHANDLUNG UND AUFBEREITUNG DER PROBE

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serum- und Plasmaproben sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-25/-15°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden. Serum- und Plasmaproben können gleichermaßen verwendet werden.

PRODUKTVORBEHANDLUNG

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.

Nur die im VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS-Kit enthaltene Waschlösung VIRCLIA® WASHING SOLUTION muss im Voraus zubereitet werden. Geben Sie 50 ml der VIRCLIA® WASHING SOLUTION (20x) zu 1 Liter Aqua dest. Sollten sich während der Lagerung des Waschpuffer-Konzentrates Salzkristalle gebildet haben, Lösung vor dem Verdünnen auf 37°C erwärmen, bis sich die Kristalle aufgelöst haben. Verdünnte Lösung bei 2-8°C lagern.

TESTVERFAHREN

- Lassen Sie die VIRCLIA® WASHING SOLUTION (gemäß den Anweisungen verdünnt) vor Gebrauch (etwa 1 Stunde) auf Raumtemperatur aufwärmen.
- Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des automatisierten Prozessors.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Charge wird einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, bevor einer Freigabe unter Spezifikationen zugestimmt wird, die strenger als die für den Anwender sind. Die endgültigen Ergebnisse der Qualitätskontrolle jedes einzelnen Artikels sind erhältlich.

Dem Kontrollmaterial liegen als Referenz nachweislich intern geprüfte Serumplatten zugrunde.

TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER

Jede Monodosierung beinhaltet einen Kalibrator (Vertiefung A) und ein Verdünnungsmittel des als negative Kontrolle verwendeten Kalibrators (Vertiefung C). Dadurch können Test und Kit validiert werden.

Die Gerätesoftware bestätigt die für die Kontrollen erhaltenen Daten und zeigt diese im Ergebnisbericht an. Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des

automatisierten Prozessors. Bei einer Abweichung der Kontrollwerte von den Sollwerten können die Ergebnisse nicht validiert werden.

BERECHNUNGEN UND ERGEBNISAUSWERTUNG

Antikörper-Index=(Proben RLU/Kalibrator RLU)

Index	Interpretation
<0,9	Negativ
0,9-1,1	Grenzwertig
>1,1	Positiv

Bei Proben mit einem Index von unter 0,9 gilt: kein Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

Proben mit grenzwertigem Ergebnis müssen erneut getestet werden und/oder eine neue Probe sollte als Bestätigung herangezogen werden.

Bei Proben mit einem Index von über 1,1 gilt: Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

VERWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Das Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma.
- Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden. Eine endgültige Diagnose sollte durch direkte Diagnostiktechniken gestellt werden.
- Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
- Zu Beginn der Infektion entnommene Proben weisen möglicherweise keine nachweisbaren Antikörperspiegel auf. In diesen Fällen wird empfohlen, eine zweite Probe zu entnehmen, die 14 bis 21 Tage später entnommen wird und parallel zur Originalprobe getestet werden soll, um eine Serokonversion zu bestimmen.
- IgG-Befunde bei Neugeborenen müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da das mütterliche IgG passiv auf den Fötus übertragen werden kann. IgM-Nachweise sind generell besser geeignet, um eine Infektion bei Kindern unter 6 Monaten aufzuzeigen.
- Bei immunsupprimierten Patienten schließt ein negatives Ergebnis keine vorhandene Infektion aus.
- Ein nicht nachweisbarer Antikörperspiegel schließt eine mögliche Infektion nicht aus.
- Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.
- Die Durchführung dieses Tests wurde nicht bei Patienten ohne klinische Anzeichen und ohne Symptome einer Infektion untersucht.
- Geringe IgM-Pegel könnten gelegentlich mehr als 12 Monate nach der Infektion andauern.
- Positive und negative prädiktive Werte hängen stark von der Prävalenz ab. Falschnegative Testergebnisse sind wahrscheinlicher, wenn die Krankheit weit verbreitet ist. Falschpositive Ergebnisse sind wahrscheinlicher bei niedriger Prävalenz.
- Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

LEISTUNGSMERKMALE

SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Serum-/Plasmaproben wurden im Vergleich zu einem kommerziellen ELISA-Kit getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	129	
Sensitivität (%)		97
	95% CI	85-99
Spezifität (%)		99
	95% CI	94-100
PPV (%)	97	
NPV (%)	99	
LR+/LR-	-0,99/-0,97	

CI: Konfidenzintervall
PPV: Positiver prädiktiver Wert
NPV: Negativer prädiktiver Wert
LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis
LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis

GENAUIGKEIT

VIRCLIA® (TB)

Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs: 3 Proben werden individuell jeweils 10 Mal in einem einzelnen automatisierten Assay unter im Wesentlichen unveränderten Bedingungen getestet.

Genauigkeit zwischen den durchläufen: 3 Proben werden individuell jeweils 5 aufeinander folgende Tage in 2 verschiedenen automatisierten Prozessoren getestet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV
Positive Probe	8,2	17,5
Kalibrator	6,9	14,2
Negativkontrolle	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation

CV: Variationskoeffizient

VIRCLIA® LOTUS

Es wurden 4 Proben untersucht. 2 Replikate von jeder Probe wurden in 2 verschiedenen Instrumenten für 20 Tage analysiert. Es wurden die Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs, die Genauigkeit zwischen den Durchläufen, die Genauigkeit zwischen den Tagen und die Genauigkeit zwischen den Labors ermittelt.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	Genauigkeit innerhalb eines Durchlaufs %CV	Genauigkeit zwischen den Durchläufen %CV	Genauigkeit zwischen den Tagen %CV	Genauigkeit zwischen den Labors %CV
Positive Probe	3,5	6,3	5,5	9,0
Kalibrator	9,9	17,7	8,7	18,3
Negative Probe	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation
Negativkontrolle	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation	Keine Änderung in der Interpretation

CV: Variationskoeffizient

INTERFERENZEN

Interferenzen - Antinukleären Antikörper / Rheumafaktoren

2 Proben, die positiv auf den Rheumafaktor reagieren, wurden getestet. Mit Rheumafaktoren wurde keine Interferenzen festgestellt.

Interferenzen - Endogene Stoffe

Mit jedem Störfaktor wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Bei hämolytischen (8,5 g/L Hämoglobin), ikterischen (6 g/L Bilirubin) oder hyperlipämischen (4 g/L Cholesterin und 2 g/L Tributyrin) Proben wurden keine Störungen festgestellt.

Interferenzen - Antikoagulantien

Mit jedem Antikoagulans wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Es wurden keine Interferenzen mit Heparin (30 IU/mL), Citrat (0,13 mol/L) und EDTA (2 mg/mL) festgestellt.

KREUZREAKTIVITÄT

10 Proben, die positiv auf andere Mikroorganismen (Herpes simplex 1+2, Epstein-Barr Virus VCA, Varizellen-Zoster-Virus, *Toxoplasma gondii* und Röteln) wurden getestet.

Mit Herpes simplex 1+2 (2 Proben getestet), Epstein-Barr Virus VCA (2 Proben getestet), Varizellen-Zoster-Virus (2 Proben getestet), *Toxoplasma gondii* (2 Proben getestet) und Röteln (2 Proben getestet) wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt.

KORRELATION (AUTOMATISIERTE VERARBEITER)

Ein Assay wurde unter den gleichen Bedingungen mit den verfügbaren automatisierten Systemen VIRCLIA® und VIRCLIA® LOTUS durchgeführt. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient (Product Moment Correlation Coefficient (PMCC)) wurde berechnet.

Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

PMCC =0,94

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS



Für die *In-vitro* Diagnostik



Verwendbar bis (Verfallsdatum)



Bei x-y°C lagern



Inhalt ausreichend für <n> Bestimmungen



Chargen-Nummer



Bestell-Nummer



Gebrauchsanleitung beachten



Hersteller

LITERATUR

1. Basson, J. et al. 1991. Characterization of immune complexes containing cytomegalovirus- specific IgM antibodies following a kidney graft. J Med Virol, 33(3), 205-10.
2. Chou, S. 1990. Newer methods for diagnosis of cytomegalovirus infection. Rev Infect Dis, 12 Suppl (7), S727-36.
3. Dolan, J. et al. 1989. Antibodies to cytomegalovirus in renal allograft recipients: correlation with isolation of virus. J Clin Pathol, 42(10), 1070-7.
4. Elder, B. L. and Smith, T. F. 1987. Evaluation of Cytomegalovirus immunoglobulin M assay and comparison with indirect fluorescent antibody testing of QAE-Sephadex A50-treated sera. Am J Clin Pathol, 87(2), 230-5.
5. Gerna, I. et al. 1987. Development and evaluation of a capture enzyme-linked immunosorbent assay for determination of rubella immunoglobulin M using monoclonal antibodies. J Clin Microbiol, 25(6), 1033-8.
6. Joassin, L. and Reginster, M. 1986. Elimination of nonspecific cytomegalovirus immunoglobulin M activities in the enzyme-linked immunosorbent assay by using anti-human immunoglobulin G. J Clin Microbiol, 23(3), 576-81.
7. Landini, M. P. et al. 1995. Recombinant mono- and polyantigens to detect cytomegalovirus-specific immunoglobulin M in human sera by enzyme immunoassay. J Clin Microbiol, 33(10), 2535-42.
8. Lazzarotto, T. et al. 1997. Search for cytomegalovirus-specific immunoglobulin M: comparison between a new western blot, conventional western blot, and nine commercially available assays. Clin Diagn Lab Immunol, 4(4), 483-6.
9. Nielsen, C. M. et al. 1987. An enzyme labelled nuclear antigen immunoassay for detection of cytomegalovirus IgM antibodies in human serum: specific and non-specific reactions. J Med Virol, 22(1), 67-76.
10. Velan, B. and Halmann, M. 1978. Chemiluminescence immunoassay. A new sensitive method for determination of antigens. Immunochemistry, 15(5), 331-333.
11. Whitehead, T. P. et al. 1979. Analytical luminescence: its potential in the clinical laboratory. Clin Chem, 25(9), 1531-46.
12. Zhao, L. et al. 2009. Chemiluminescence immunoassay. Trends Analyt Chem, 28(4), 404-415.
13. Zerbini, M. et al. 1986. Detection of specific immunoglobulin M antibodies to cytomegalovirus by using monoclonal antibody to immunoglobulin M in an indirect immunofluorescence assay. J Clin Microbiol, 24(1), 166-8.

Versionsnummer: L-VCM022-DE-02

Datum: 2022/05/12

Vorhergehende Version: L-VCM022-DE-01

Aktualisierungen: siehe „Änderung in Kapitel“

Änderung in Kapitel: GENAUIGKEIT, KORRELATION (AUTOMATISIERTE VERARBEITER)