

HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0

Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische **Hepatitis E Virus (HEV)** Antigene in humanem Serum. Der **HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem aufgereinigte spezifische Antigene des Open Reading Frames 2 (ORF2) und ORF3 der Genotypen 1 und 3 des **Hepatitis E Virus** an definierten Positionen auf Nitrozellulose gebunden werden. Der HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0 ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt.

Testprinzip

Am Boden jeder Kavität einer 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der Antigene als Analytspots fixiert sind (Microarray). Während der Seruminkubation binden HEV-spezifische Antikörper im Patientenserum an die fixierten Antigene auf dem Microarray. Während der Konjugatinkubation bindet das Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Nach Zugabe der Chromogen / Substratlösung setzt die an den Konjugat-Antikörper gebundene Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Microarray lila bis schwarz an. Nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen / Substratinkubation erfolgt jeweils ein Waschschriff zur Entfernung ungebundener Antikörper und Reagenzien.

Jeder Microarray beinhaltet neben den Analytspots folgende Kontrollspots: **Serumkontrollen, Konjugatkontrollen, Kalibratorkontrollen** und eine **Negativkontrolle**. Die Analytspots dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen die HEV-spezifischen Antigene **O2-3N, O2-1N, O2-3C4, O2-1C4** und **O3-3FL**.

Zur eindeutigen Kennzeichnung sind die Kavitäten farblich kodiert: Dazu ist der HEV ViraChip® IgM durch einen **braunen Viertelkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.: **V-HECMOK**
 Packungsgröße: **MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten**
 Probenmaterial: **10 µl Serum**
 Testdauer: **ca. 130 Minuten**

Kitinhalt

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

Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung, wird separat mitgeliefert

50 ml	ViraChip® Sample Buffer	(Best.-Nr.: V-UVCUPP)
	Probenpuffer für ViraChip® Teste, mit Milchpulver, Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, gebrauchsfertig	

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	HEV ViraChip® IgM Antigen Coated Wells (8)	(Best.-Nr.: V-HECMRT)
	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
330 µl	HEV ViraChip® IgM Positive Control	(Best.-Nr.: V-HECMPI)
	IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	HEV ViraChip® IgG,A,M Negative Control	(Best.-Nr.: V-HECPNK)
	IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	

Zusätzlich geforderte Ausrüstung

1. ViraChip Software®	zum Vorbereiten, Durchführen und Auswerten des Testlaufes, ab v1.3.0-1960	(Best.-Nr.: V-VCNUPR)
2. 2D-Barcode Scanner	zum Lesen der DataMatrix-Codes	
3. Mikrotiterplatte	zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen	(Best.-Nr.: V-UVNMP)
	mit 96 Leerkavitäten	
4. Orbitalschüttler (750 rpm)	zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung	
	oder Linearschüttler (20 Hz)	
5. ViraChip® Scanner	zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Teste, ab ViraChip®	(Best.-Nr.: V-UVCSCA)
	Scanner v1.0 bzw. ViraChip® Reader Rev.01	(Best.-Nr.: V-UVCCAM)
6. Optional: Ventilator/ Lüfter	zur schnelleren Trocknung der entwickelten Mikrotiterplatten	

Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

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

Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: **Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser (H₂O) verdünnen: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H₂O

Probenpuffer: Gebrauchsfertig

Konjugatlösung: Gebrauchsfertig

Chromogen / Substratlösung: Gebrauchsfertig

- MTP-Kavitäten:** Die Mikrotiterplatte (MTP) vorsichtig aus der Verpackung entnehmen und die benötigte Anzahl an Kavitäten in einen leeren Mikrotiterplattenrahmen stecken (Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes, Punkt 3). Nach Entnahme aus der Verpackung Kavitäten sofort verwenden. Nicht benötigte Kavitäten sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.
- Patientenproben:** Die Patientenproben werden in einer **1:76** Verdünnung eingesetzt, z.B. **10 µl Patientenprobe + 750 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Probe werden bei der Prozessierung 100 µl benötigt.
- Kontrollen:** Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer **1:16** Verdünnung eingesetzt, z.B.: **10 µl Kontrollserum + 150 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Kontrolle werden bei der Prozessierung 100 µl eingesetzt.

Aufbau des HEV ViraChip® IgM Microarrays

Antigene:

Jedes HEV-spezifische Antigen, **O2-3N, O2-1N, O2-3C4, O2-1C4** und **O3-3FL**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Jedes Spottriplett entspricht einer Bande im Western Blot / Immunoblot.

Kontrollen:

Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:

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

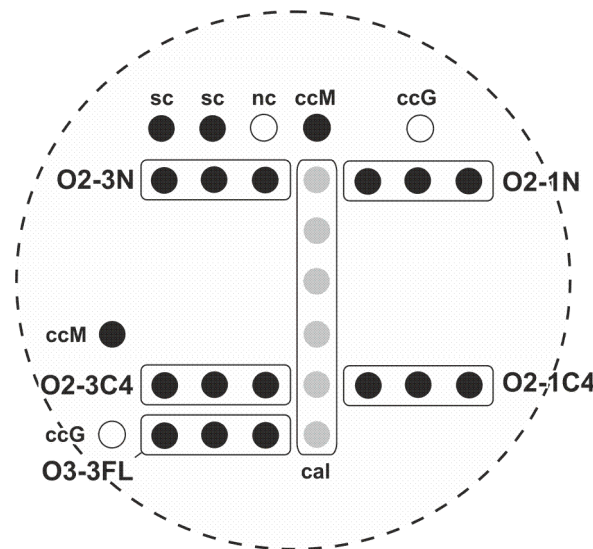


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem HEV ViraChip® IgM Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der HEV Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
O2-3N	N-terminales Fragment des ORF2, 55kD, Genotyp 3	Der Open Reading Frame 2 (ORF2) kodiert für ein Capsidprotein, das das gesamte RNA Genom umhüllt. Dies ist das einzige strukturelle Protein des Hepatitis E Virus und bildet ein hoch komplexes Multimer (10,6). Das Capsidprotein ist verantwortlich für die Interaktion mit Zielzellen (3,4), den Zusammenbau des Virions (6,7) und die Immunogenität (6,16). Insgesamt besteht das ORF2 Protein aus drei linearen Domänen: der Hüll-Domäne, der mittleren Domäne und einer hervorstehenden P-Domäne (6).
O2-1N	N-terminales Fragment des ORF2, 65kD, Genotyp 1	
O2-3C4	C-terminales Fragment 4 des ORF2, 16kD, Genotyp 3	
O2-1C4	C-terminales Fragment 4 des ORF2, 16kD, Genotyp 1	
O3-3FL	ORF3, full-length, Genotyp 3	Das ORF3 Protein ist ein Phosphoprotein (10). Es bildet zusammen mit Membranen des Endoplasmatischen Reticulums multimerische Komplexe und beinhaltet strukturelle Merkmale der Klasse I Viroporine (2). Zusätzlich aktiviert das ORF3 Protein den zellulären Mitogen-aktivierten Protein Kinase Signalweg und moduliert vermutlich das Wirtszell Milieu für eine effiziente virale Replikation (11).

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Bei automatisierter Prozessierung können sich Inkubationszeiten, Volumina und die Reihenfolge der einzelnen Arbeitsschritte von der im Folgenden aufgeführten Arbeitsvorschrift unterscheiden. Eine detaillierte Schritt-für-Schritt Anleitung für die verwendete Automationslösung sowie eine Anleitung für die Benutzung der ViraChip® Software wird bei der Einrichtung der Geräte und Schulung durch die Viramed Biotech AG zur Verfügung gestellt. Siehe auch Abschnitt „Hinweise zu Geräten und Software“.

1. Belegen

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

2. Bestücken

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

3. Prozessieren

Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.

3.1 Vorbereitung

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

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

3.2 Vorinkubation

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

3.3 Seruminkubation

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

3.4 3 x waschen

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

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

3.5 Konjugatinkubation

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

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

3.6 3 x waschen

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

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

3.7 1 x waschen

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

3.8 Substratinkubation

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

3.9 3 x waschen

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

3.10 Kavitäten trocknen

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

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

4. Scannen

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

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

5. Analysieren

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

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

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

5.2 Gültigkeitsprüfung

Die Gültigkeitsprüfung wird von der ViraChip® Software automatisch durchgeführt.

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

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

Falls eines der genannten Kriterien nicht erfüllt ist, wird der ViraChip® Microarray als „nicht gültig“ klassifiziert. Nicht gültige ViraChip® Microarrays dürfen nicht ausgewertet werden und müssen wiederholt werden.

5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays

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

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

Auswertekriterien

ViraChip®-Einheiten der Spottriplets	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens zwei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: O2-3N, O2-1N, O2-3C4, O2-1C4, O3-3FL	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen HEV nachweisbar. Eine HEV Infektion ist wahrscheinlich.
Höchstens ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Negativ	Keine spezifischen IgM Antikörper gegen HEV nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.

Diagnostische Bedeutung von HEV Antikörpern

- 1. IgG Antikörper** sind ca. 5 bis 7 Tage nach IgM Antikörpern nachweisbar und persistieren lange (>14 Jahre) (5,9,8). Zusätzlich kann ein Testwert von >10 IU/ml auf eine protektive Wirkung hinweisen (9).
- 2. IgM Antikörper** sind bereits 2-6 Wochen nach Beginn der klinischen Symptomatik detektierbar und können oft vor dem Auftreten eines Ikterus nachgewiesen werden (5,9). Die IgM Titer fallen in der Regel innerhalb von drei Monaten während der Konvaleszenz schnell ab (5,9). Das Vorhandensein von IgM Antikörpern ist ein Marker für eine akute Infektion (6). Im Falle eines negativen IgM Befundes bei immunsupprimierten Patienten sollte bei klinischem Verdacht auf eine akute HEV-Infektion ein molekularbiologischer Direktnachweis des Erregers im Serum oder Stuhl durchgeführt werden (14).
- 3. IgA Antikörper** können möglicherweise den Nachweis einer akuten HEV-Infektion erlauben (1).
- 4.** Ein mit einem ELISA erzielter positiver Nachweis von Antikörpern gegen HEV sollte durch einen Immunoblot bestätigt werden. Bei diskrepanten Ergebnissen ist die Abklärung durch das Konsiliarlabor empfohlen (8).
- 5.** Allgemein sollte beim Erstnachweis von HEV-Antikörpern und gleichzeitigem Vorliegen von eindeutigen klinischen Symptomen zur Absicherung 8–10 Tage später eine zweite Probenahme erfolgen, um den Antikörperanstieg zu belegen (1).
- 6.** Das Hepatitis E Virus und die damit einhergehende Hepatitis ist weltweit verbreitet (13). Insgesamt gibt es vier humanpathogene Genotypen, die sich hinsichtlich geographischer Verteilung,

- Krankheitsbild und Übertragungsweg unterscheiden (5,13). Hierbei sind die Genotypen 1 und 2 endemisch in Entwicklungsländern mit sporadischen Ausbrüchen, meist verursacht durch fäkale Wasserverunreinigung oder Aufnahme von verunreinigten Nahrungsmitteln (5,13). Die Genotypen 3 und 4 sind in Deutschland und vielen weiteren Ländern Europas und Nordamerikas endemisch vertreten (13). Die Übertragung des Virus erfolgt hier meist über direkten Tierkontakt (Schwein oder Wildschwein) oder den Verzehr von infiziertem, unzureichend gegartem Schweine- bzw. Wildfleisch als auch durch den Verzehr von Muscheln aus verunreinigten Gewässern (5,13).
- 7.** Die Prävalenz von Antikörpern gegen HEV liegt bei 16,8% in der erwachsenen Bevölkerung Deutschlands, wobei eine deutliche Zunahme mit fortschreitendem Alter zu beobachten ist. So liegt laut RKI die Prävalenz bei etwa 5% bei unter 30-Jährigen und bei etwa 25% bei über 60-Jährigen (5,13).
- 8.** Eine HEV-Infektion während der Schwangerschaft führt meist zu einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitäts-Risiko für Mutter und Kind (13).
- 9.** Bei der durch das Hepatitis E Virus verursachten Hepatitis handelt es sich um eine seit 2001 meldepflichtige Erkrankung. Eine namentliche Meldepflicht besteht gemäß §6 Abs.1 Infektionsschutzgesetz (IfSG) bei Krankheitsverdacht, Erkrankung und Tod sowie nach §7 Abs. 1 IfSG bei direktem oder indirektem Erregernachweis (13).
- 10.** Kreuzreaktionen mit HEV-Antigenen sind insbesondere bei IgM Analysen bei Infektionen mit EBV und CMV beschrieben (10,12).

HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0

- 5 -

Leistungsdaten
Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden Seren von Patienten mit Verdacht auf eine frische HEV Infektion und mit positiver Reaktivität in einem Vergleichstest mit dem HEV ViraChip® IgM untersucht:

Kollektiv	HEV ViraChip® IgM positiv, % (n)
Positiv (n = 65)	97 % (63)

Spezifität

Zur Bestimmung der diagnostischen Spezifität wurden Seren, die negativ mit einem Suchtest vorcharakterisiert wurden, mit dem HEV ViraChip® IgM untersucht:

Kollektiv	HEV ViraChip® IgM negativ, % (n)
Negativ (n = 291)	98% (286)

Prävalenz

Zur Bestimmung der Prävalenz wurden Seren von Blutspendern und Schwangeren mit dem HEV ViraChip® IgM untersucht.

Kollektiv	HEV ViraChip® IgM positiv, % (n)
Seren von Blutspendern und Schwangeren (n = 300)	3% (9)

Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausstattung (z.B. nach GLP) und die ggf. erforderlichen behördlichen Genehmigungen zum Umgang mit den zu testenden Proben besitzt.

2. Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice (GLP)“ eingehalten werden.

3. Dieser Test ist nur von Fachpersonal durchzuführen, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. ViraChip® Microarrays: Verschluss in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

2. Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

3. Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung: Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.

4. Probenpuffer: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

5. Konjugatlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

6. Chromogen/Substratlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!

7. Nach erstmaligem Öffnen der Reagenzien und Kitkomponenten wird bei sachgerechter Anwendung („Good Laboratory Practice“) und Einhaltung der auf dem Etikett angegebenen Lagerungsbedingungen in der Originalverpackung die Haltbarkeit in der Regel bis zum angegebenen Verfallsdatum beibehalten.

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

1. Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBs-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen / internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.

2. Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Maßnahmen sind unter anderem:

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
- Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

3. Die Berührung von Haut und Schleimhäuten mit Chromogen / Substratlösung vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.

4. Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Laborrichtlinien zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.

5. Angaben über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie sind in den Sicherheitsdatenblättern dokumentiert.

6. Der Eintritt von Staub und anderen Verschmutzungen in die Kavitäten der MTP ist zu vermeiden, da daraus ungültige Ergebnisse resultieren können.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

1. Der HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0 ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.

2. Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (15).

3. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu ungültigen Ergebnissen führen.

4. Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein.

HEV ViraChip® IgM Test Kit 2.0

- 6 -

5. In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine Lagerung bis zu 24 Monaten sind die Proben in Aliquots bei mindestens -20°C einzufrieren.

6. Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen

vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.

7. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens

1. Ein positives Testergebnis der jeweiligen Patientenprobe ist als Symptom zu werten. Interpretation und Beurteilung von Testergebnissen dürfen nur durch medizinisches Fachpersonal unter Wertung aller relevanten Daten erfolgen (14).

2. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.

3. Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen mit verschiedenen Testen bzw. mit verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

4. Bei Immunsuppression gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit (14).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (14).

6. *In vitro*-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.

7. Präzises Befolgen der Arbeitsvorschrift ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungenügendes Durchführen der Waschschriffe kann falsche Ergebnisse verursachen.

8. Der Ansatz von Poolproben, bei denen mehrere Seren gemeinsam untersucht werden, ist unzulässig, da bei derartigen Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität beeinträchtigt werden können.

Hinweise zu Geräten und Software

1. Bei automatisierter Durchführung müssen für den jeweiligen Prozessortyp von Viramed Biotech AG validierte Arbeitsschritte programmiert und verwendet werden.

2. Bei Verwendung von processorspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die entsprechenden Konfigurationen nach Herstellerangaben von Viramed Biotech AG freizugeben.

3. Die von Viramed Biotech AG bereitgestellte Geräte- und Softwarekonfiguration darf nicht verändert werden. Jegliche Änderung kann falsche Ergebnisse verursachen.

4. Es ist ausschließlich gerätespezifische Software zu verwenden. Änderungen an Konfigurationsdateien dürfen nur von Viramed Biotech AG durchgeführt werden.











5. Als Messgeräte sind nur von Viramed Biotech AG zugelassene Systeme zu verwenden.

6. Die Auswertung der ViraChip® Microarrays erfolgt ausschließlich über die ViraChip® Software. Eine manuelle/visuelle Auswertung ist nicht möglich.

Literatur

1. RKI Robert Koch Institut: Hepatitis-E-Virus - Stellungnahme des Arbeitskreises Blut, Bundesgesundheitsblatt, 2008
2. DING, Q et al.: Hepatitis E virus ORF3 is a functional ion channel required for release of infectious particles, PNAS, 2017
3. HE, S et al.: Putative receptor-binding sites of hepatitis E virus, J Gen Virol, 2008
4. KALIA, M et al.: Heparan sulfate proteoglycans are required for cellular binding of the hepatitis E virus ORF2 capsid protein and for viral infection, J Virol, 2009
5. KAMAR, N et al.: Hepatitis E, Lancet, 2012
6. KAMAR, N et al.: Hepatitis E Virus Infection, Clinical Microbiology Reviews, 2014
7. LI, TC et al.: Expression and Self-Assembly of Empty Virus-Like Particles of Hepatitis E Virus, J Virol, 1997
8. SCHAEFER, S et al.: MiQ 25: Diagnostik von Infektionen der Leber, Elsevier Urban & Fischer, 2006
9. PODBIELSKI, A et al.: MiQ 35: Infektionsimmunologische Methoden Teil II, Elsevier Urban & Fischer, 2016
10. MIRAZO, S et al.: Transmission, diagnosis, and management of hepatitis E: an update, Hepatic Medicine: Evidence and Research, 2014
11. MOIN, SM et al.: The Hepatitis E Virus Orf3 Protein Protects Cells from Mitochondrial Depolarization and Death, J Biol Chem, 2007
12. NAN, Y & ZHANG, YJ: Molecular Biology and Infection of Hepatitis E Virus, Front Microbiol, 2016
13. RKI Robert Koch Institut: Hepatitis-E-Virus-Infektion aus virologischer Sicht, Epidemiologisches Bulletin Nr 15, 2015
14. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
15. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
16. XING, L et al.: Spatial configuration of hepatitis E virus antigenic domain, J Virol, 2011
17. FABER, MS et al.: Hepatitis E Virus Seroprevalence among Adults, Germany, Emerging Infectious Diseases, Vol. 18, No. 10, October 2012

Symbolerklärungen

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