

EBV ViraChip® IgM Test Kit 2.0

Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische **Epstein-Barr Virus** Antigene in humanem Serum.

Der **EBV ViraChip® IgM Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem folgende aufgereinigte EBV-spezifische Antigene verwendet werden: Virus Capsid Antigene **VCA gp125** sowie **VCA p18** und Early Antigen **EA-D**.

Der EBV ViraChip® IgM Test Kit 2.0 ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt und erfüllt die Anforderungen von Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik „**MiQ**“ **13a** und „**MiQ**“ **30**.

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 EBV-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 Waschschritt 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 EBV-spezifischen Antigene **VCA gp125**, **VCA p18** und **EA-D**.

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

Best.-Nr.:	V-EBCMOK
Packungsgröße:	MTP à 96 einzelebrenbaren Kavitäten
Probenmaterial:	10 µl Serum
Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

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

Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung, wird separat mitgeliefert

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

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	EBV ViraChip® IgM Antigen Coated Wells (8) Einzelebrenbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-EBCMRT)
330 µl	EBV ViraChip® IgM Positive Control IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-EBCMPK)
330 µl	EBV ViraChip® IgM Weak Positive Control IgM schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-EBCMWK)
330 µl	EBV ViraChip® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-EBCPNK)

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 mit 96 Leerkavitäten	zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen	(Best.-Nr.: V-UVNMTPT)
4. Orbitalschüttler (750 rpm) oder Linearschüttler (20 Hz)	zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung	
5. ViraChip® Scanner oder ViraChip® Reader	zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Teste, ab ViraChip® Scanner v1.0 bzw. ViraChip® Reader Rev.01	(Best.-Nr.: V-UVCSCA) (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 (H ₂ O) verdünnen: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H ₂ O
Probenpuffer:	Gebrauchsfertig
Konjugatlösung:	Gebrauchsfertig
Chromogen / Substratlösung:	Gebrauchsfertig

EBV ViraChip® IgM Test Kit 2.0

- 2 -

- 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 EBV ViraChip® IgM Microarrays
Antigene:

Jedes EBV-spezifische Antigen, **VCA gp125**, **VCA p18** und **EA-D**, 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).

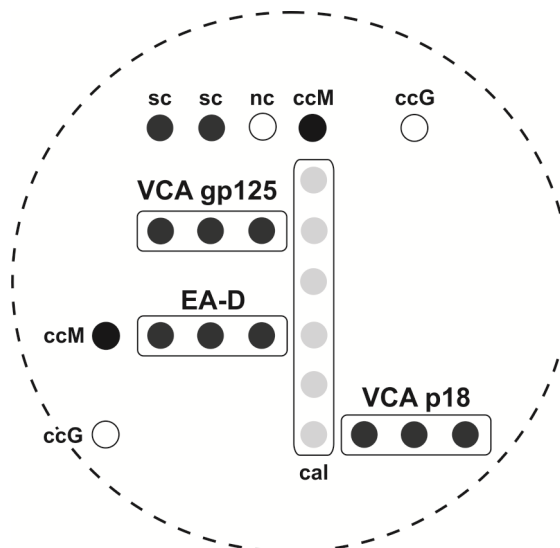


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem EBV ViraChip® IgM Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur der EBV Antigene

Antigen:	Bemerkungen:
VCA gp125	Natives Virales Capsid Antigen / Glycoprotein 125
EA-D p54	Early D Antigen / Protein 54
VCA p18	Virales Capsid Antigen / Protein 18

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 Probanddaten 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	Bewertung / Ergebnis	Beurteilung
VCA gp125 Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen VCA gp125 nachweisbar. Eine Primärinfektion ist wahrscheinlich, wenn das EBNA1 IgG Ergebnis gleichzeitig negativ ist. Bei Vorhandensein von EBNA1 IgG Antikörpern ist eine abgelaufene EBV Infektion mit persistierenden VCA gp125 IgM Antikörpern oder eine Reaktivierung möglich.
EA-D Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen EA-D nachweisbar. Diese können bei Primärinfektionen auftreten.
VCA p18 Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen VCA p18 nachweisbar. Eine Primärinfektion ist wahrscheinlich, wenn das EBNA1 IgG Ergebnis gleichzeitig negativ ist. Hingegen ist bei grenzwertigem oder positivem Ergebnis bezüglich EBNA1 IgG eine abgelaufene EBV Infektion mit länger persistierenden VCA p18 IgM Antikörpern oder eine Reaktivierung möglich.
VCA gp125 Spottriolett ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten	Grenzwertig	Geringe Mengen an spezifischen IgM Antikörpern gegen VCA gp125 nachweisbar. Sowohl eine Primärinfektion als auch eine abgelaufene EBV Infektion bzw. Reaktivierung oder persistierende IgM Antikörper sind möglich. Auf IgG Antikörper überprüfen. Bei negativem EBNA1 IgG Ergebnis deutet ein grenzwertiges VCA gp125 IgM Ergebnis auf eine Primärinfektion hin. Bei positivem EBNA1 IgG Ergebnis spricht ein grenzwertiges VCA gp125 IgM Ergebnis eher für eine abgelaufene EBV Infektion. Zweite Serumprobe nach 2-3 Wochen auf IgG und IgM Antikörper überprüfen.
VCA gp125 Spottriolett < 50 ViraChip®-Einheiten und/oder EA-D und/oder VCA p18 < 100 ViraChip®-Einheiten	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen IgM Antikörpern gegen EBV nachweisbar. Bei klinischem Verdacht auf eine Primärinfektion zweite Serumprobe nach 2-3 Wochen auf IgG und IgM Antikörper überprüfen.

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

Diagnostische Bedeutung von EBV Antikörpern

VCA IgG: IgG Antikörper gegen VCA weisen auf eine EBV Infektion hin. IgG Antikörper gegen **VCA gp125** sind bei einer Primärinfektion meist schon bei Auftreten der klinischen Symptome nachweisbar. Sie steigen dann über mehrere Wochen an und sinken anschließend auf niedrigere Titer ab, die lebenslang persistieren. IgG Antikörper gegen **VCA p18** hingegen gelten als Spätmarker. Sie werden zeitlich etwas verzögert gebildet und deuten bei starker Reaktivität auf eine abgelaufene Infektion hin (4).

Eine Unterscheidung zwischen Primärinfektion und abgelaufener EBV Infektion wird zunächst über das EBNA1 IgG Ergebnis getroffen. Bei negativem EBNA1 IgG (z.B. sekundärer EBNA1-Verlust) und negativem VCA gp125 IgM Ergebnis deutet ein stark positives VCA p18 IgG Ergebnis auf eine abgelaufene EBV Infektion hin (Ausschluss einer Primärinfektion) (1,2,3).

EBNA1 IgG: IgG Antikörper gegen EBNA1 treten ca. 6-10 Wochen nach Primärinfektion erstmals auf und persistieren lebenslang. Der Nachweis von IgG Antikörpern gegen EBNA1 weist auf eine abgelaufene Infektion hin schließt eine Primärinfektion aus (4). Bei Immunsupprimierten kann es trotz abgelaufener EBV Infektion zu sekundärem EBNA1-Verlust kommen (1,2). Außerdem bilden ca. 5 % der gesunden Bevölkerung nach einer EBV Infektion keine IgG Antikörper gegen EBNA1. In diesen Fällen kann die Unterscheidung zwischen Primärinfektion und abgelaufener Infektion über den IgG Spätmarker VCA p18 erfolgen. Eine starke Reaktivität dieses Spottriplets deutet auf eine abgelaufene EBV Infektion hin (Ausschluss einer Primärinfektion) (1,2,3).

EA-D IgG: IgG Antikörper gegen EA-D treten bei einer Primärinfektion bei bis zu 80% der Patienten ca. 8-10 Tage nach Beginn der klinischen Symptome erstmals auf und fallen in der Regel nach 3-6 Monaten unter die Nachweisgrenze ab (5). Jedoch können IgG Antikörper gegen EA-D auch bei gesunden Personen mit einer abgelaufenen EBV Infektion mit hohen Titern persistieren

(14,7,4). In einigen Fällen einer Primärinfektion kann eine isolierte EA-D IgG Antikörperreaktion beobachtet werden. IgG Antikörper gegen EA-D können bei Reaktivierungen erneut gebildet werden und werden auch bei Nasopharynxkarzinomen beobachtet (1,2,12,9).

VCA IgM: IgM Antikörper gegen **VCA gp125** treten zu 90% bei Primärinfektionen auf, meist gleichzeitig, manchmal sogar etwas verzögert mit IgG Antikörpern gegen VCA (13). Sie steigen in der Regel nach Infektionen innerhalb weniger Wochen steil an und fallen meist nach ca. 8-10 Wochen unter die Nachweisgrenze, können jedoch in einzelnen Fällen bis zu Monaten oder Jahren persistieren (13). Bei Reaktivierung können IgM Antikörper gegen VCA erneut auftreten (1,2,3).

IgM Antikörper gegen **VCA p18** treten bei Primärinfektionen auf. Ihr Titer bleibt gegenüber dem Titer von VCA gp125 IgM Antikörpern länger erhalten und sinkt in der Regel erst nach Bildung von IgG Antikörpern gegen EBNA1 ab.

EBNA1 IgM: Die klinische Bedeutung von IgM Antikörpern gegen EBNA1 ist nicht hinreichend gesichert und wird daher für die Interpretation nicht berücksichtigt.

EA-D IgM: Das Auftreten von IgM Antikörpern gegen EA-D wird in einigen Fällen bei Primärinfektionen beschrieben (8).

VCA IgA: IgA Antikörper gegen VCA treten häufig bei Patienten mit einer Primärinfektion, meist gleichzeitig mit IgG und IgM Antikörpern gegen VCA auf. Bei Patienten mit Nasopharynxkarzinom sind IgA Antikörper gegen VCA mit sehr hohen Titern nachweisbar (3,10,11,16).

EA-D IgA: IgA Antikörper gegen EA-D werden bei Patienten mit Nasopharynxkarzinom beobachtet und besitzen große Bedeutung bei der Früherkennung des Tumors (6,11,16).

Leistungsdaten

Sensitivität und Spezifität

Die Evaluation des EBV ViraChip® IgM erfolgte über ein Serumpanel von 208 Seren. Das Panel setzte sich aus 75 Seren von Patienten mit bestätigten Primärinfektionen, 117 Seren von gesunden Blutspendern und 16 seronegativen Seren zusammen. Diese Seren wurden über den EBV ViraStripe® IgM vorcharakterisiert.

		EBV ViraStripe® IgM					
		VCA gp125		EA-D		VCA p18	
Primärinfektion (n=75)	n (%)	Positiv/GW	Negativ	Positiv/GW	Negativ	Positiv/GW	Negativ
EBV ViraChip® IgM	Positiv/GW	70 (93%)	3 (4%)	13 (17%)	7 (9%)	57 (76%)	2 (3%)
	Negativ	0 (0%)	2 (3%)	1 (1%)	54 (72%)	7 (9%)	9 (12%)

		EBV ViraStripe® IgM					
		VCA gp125		EA-D		VCA p18	
Blutspender (n=117)	n (%)	Positiv/GW	Negativ	Positiv/GW	Negativ	Positiv/GW	Negativ
EBV ViraChip® IgM	Positiv/GW	1 (1%)	1 (1%)	2 (2%)	0 (0%)	6 (5%)	3 (3%)
	Negativ	0 (0%)	115 (98%)	0 (0%)	115 (98%)	1 (1%)	107 (91%)

In der Kontrollgruppe der 16 seronegativ vorcharakterisierten Seren wurden keine positiven Testergebnisse mit dem EBV ViraChip® IgM erhalten.

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:** Verschlossen 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.

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.

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.

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 **EBV 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.
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 Prozessorspezifischen 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. BAUER, G: The diagnostic value of Epstein-Barr virus diagnosis, Internist, 1992
2. BAUER, G: Diagnostik der Herpesviren Teil I: Epstein-Barr-Virus (EBV) und Zytomegalievirus (CMV), MTA, 1995
3. BAUER, G: The rational basis for efficient EBV serology, Clin Lab, 1995
4. BAUER, G: Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology, Clin Lab, 2001
5. CDC National Center for Infectious Diseases: Epstein-Barr Virus and Infectious Mononucleosis, <https://www.cdc.gov/epstein-barr/index.html>, 2019
6. DÖLKEN, G et al.: Demonstration of IgG- and IgA-antibodies against Epstein-Barr virus-associated antigens with a microtiter enzyme immunoassay system The determination of serum antibodies against the viral capsid antigen and the early antigen complex in the sera of tumor and infectious mononucleosis patients, Dtsch Med Wochenschr, 1984
7. ENDERS, G: Labormedizin 10:, 1986
8. GORGIEVSKI-HRISOHO, M et al.: Serodiagnosis of infectious mononucleosis by using recombinant Epstein-Barr virus antigens and enzyme-linked immunosorbent assay technology, J Clin Microbiol, 1990
9. KOCH, HG & HARMS, E: Virus-Serie (8): Infektionen mit dem Epstein-Barr-Virus, Dtsch Arztebl, 1995
10. HENLE, W: Virusdiagnostik für Klinik und Praxis, 1979
11. MODROW, S et al.: Molekulare Virologie, Spektrum Akademischer Verlag, 1997
12. NILLER, HH: Bibliothek Nr 6/7, 1992
13. SCHILLINGER, M: Med Microbiol Letters 2, 1993
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. ZUH, X: Int J Cancer, 1986

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