

Parvovirus B19 ViraChip® IgM Test Kit 2.0

Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische **Parvovirus B19** Antigene in humanem Serum.

Der **Parvovirus B19 ViraChip® IgM Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem folgende aufgereinigte Parvovirus B19-spezifische Antigene verwendet werden: **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, **VP2★** und **VP2**. Die Antigene VP1, VP1-N, VP2-C und VP2 bestehen aus denaturierten Proteinen und weisen lineare Epitope auf. Das Virus-ähnliche Kapsidpartikel des VP2★ präsentiert Konformationsepitope (★) (2,12,3,13,9,10).

Der Parvovirus B19 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 Parvovirus B19-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 Parvovirus B19-spezifischen Antigene **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, **VP2★** und **VP2**.

Zur eindeutigen Kennzeichnung sind die Kavitäten farblich kodiert: Dazu ist der Parvovirus B19 ViraChip® IgM durch einen **violetten Viertelkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

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

Kitinhalt

1 MTP à 96 Kavitäten	Parvovirus B19 ViraChip® IgM Antigen Coated Wells Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-PVCMAC)
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	Parvovirus B19 ViraChip® IgM Antigen Coated Wells (8) Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVCMRT)
330 µl	Parvovirus B19 ViraChip® IgM Positive Control IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVCMPK)
330 µl	Parvovirus B19 ViraChip® IgM Weak Positive Control IgM schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVCMWK)
330 µl	Parvovirus B19 ViraChip® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-PVCPNK)

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-UVNMTM)
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-UVCVAM)
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

Parvovirus B19 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 Parvovirus B19 ViraChip® IgM Microarrays
Antigene:

Jedes Parvovirus B19-spezifische Antigen, **VP1**, **VP1-N**, **VP2-C**, **VP2★** und **VP2**, 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).

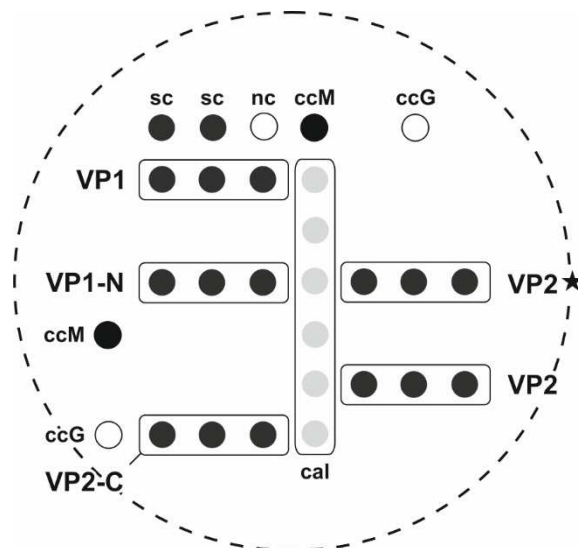


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem Parvovirus B19 ViraChip® IgM Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der Parvovirus B19 Antigene aus der Literatur

Antigen:		Bemerkungen:
VP1	84 kD	lineares Volllängen-Strukturprotein VP1.
VP1-N	30 kD	linearer N-Terminus von VP1, „VP1 unique region“; immundominant.
VP2★	60 x 58 kD	konformatives Volllängen-Strukturprotein VP2, „ VP2 Virus-ähnliche Kapsidpartikel “.
VP2	58 kD	lineares Volllängen-Strukturprotein VP2.
VP2-C	47 kD	linearer C-Terminus VP2.

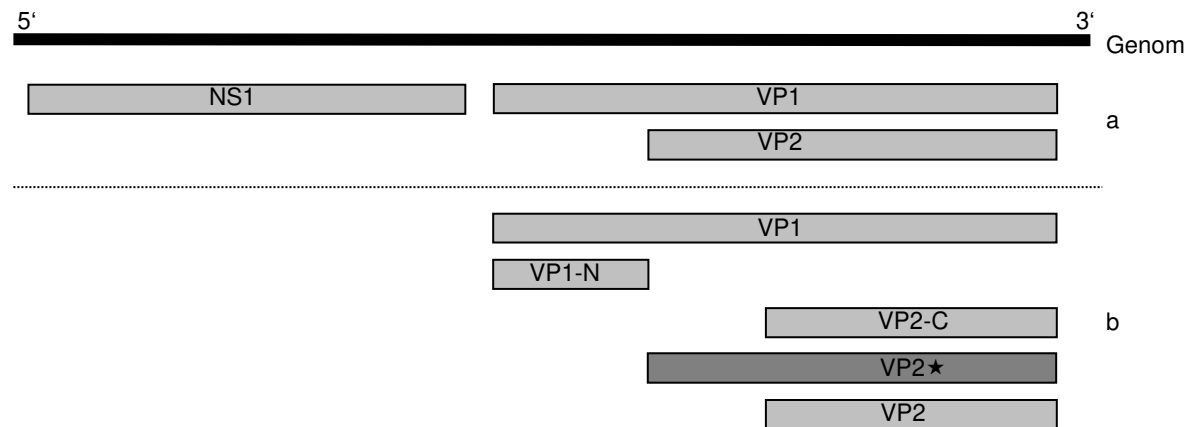


Abbildung 2: Schematische Repräsentation des Parvovirus B19 Genoms und der kodierten Proteine in vivo (a) sowie der Antigene auf dem Parvovirus B19 ViraChip® IgM (b).

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 Spottrioletts werden unter Berücksichtigung der chargen-spezifischen Faktoren relativ zu den Kalibratorkontrollen durch die ViraChip® Software berechnet.

Auswertekriterien

ViraChip®-Einheiten der Spottrioletts	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens zwei Spottrioletts ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: VP1, VP1-N, VP2-C, VP2★, VP2	Positiv	Spezifische Antikörper gegen Parvovirus B19 nachweisbar. Eine akute Infektion ist wahrscheinlich. Zusätzlich IgG Antikörperstatus überprüfen. Nachweis von Virus-DNA ist empfohlen.
Höchstens ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: VP1, VP1-N, VP2-C, VP2★, VP2	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen Antikörpern gegen Parvovirus B19 nachweisbar. Schließt eine akute Infektion nicht aus. Zusätzlich IgG Antikörperstatus überprüfen.

Diagnostische Bedeutung von Parvovirus B19 Antikörpern

1. IgG Antikörper gegen VP1 und VP2 werden ca. 10-12 Tage nach Infektion gebildet (22,14,17,18,1). Sie sind sowohl gegen lineare als auch gegen Konformationsepitope gerichtet. IgG Antikörper bleiben lebenslang erhalten und verleihen immunkompetenten Personen Immunität vor Parvovirus B19 Reinfektionen (3,22,14,17,27,4,18,1,6). Die IgG Reaktivität in der akuten Phase richtet sich hauptsächlich gegen Antigene des VP2 (22). Antikörper gegen lineare Epitope des VP1, insbesondere der N-terminale Teil, der als „VP1 unique region“ bezeichnet wird, sind auch nach der akuten Infektion über Jahre nachweisbar, während die Reaktivität der IgG Antikörper gegen lineare Epitope des VP2 bereits nach ca. 6 Monaten abnimmt (22,27,4,18,11). Der Antikörpernachweis gegen lineare Epitope des VP2 deutet daher auf eine akute oder eine kürzlich zurückliegende Parvovirus B19 Infektion bzw. auf Rekonvaleszenz hin (22,11). Diese Reaktivität ist hauptsächlich gegen den C-terminalen Teil des VP2 gerichtet. In diesem Bereich finden sich Peptidsequenzen, die mit Akutphasen-Seren als diagnostische „hot spots“ Akutmarker identifiziert wurden (11). IgG Antikörper gegen Konformationsepitope von VP1 und VP2 werden früh gebildet und persistieren lebenslang (12,3,13,9,17,27,4,18). Detektion von IgG Antikörpern gegen Konformationsepitope der VP2 Virus-ähnlichen Kapsidpartikel weisen auf eine zurückliegende Infektion hin. Somit ist ihr Nachweis ein Indikator für Immunität (3,22,14,17,27,4,18,1).

VP1 zeigt eine deutlich effektivere Immunantwort mit neutralisierender Wirkung als VP2 (21,17,19,4,18). Die „VP1 unique region“ ist besonders immundominant und Antikörper gegen dieses Peptid tragen hauptsächlich zur Neutralisierung des Virus bei

(5,19,27,4). Trotz neutralisierender Wirkung der IgG Antikörper sind infizierte Schwangere häufig in einer verlängerten Akutphase und über Monate virämisch (18,6).

IgG Antikörper gegen das Nicht-Strukturprotein NS1 wurden ursprünglich mit schweren Verläufen von Parvovirus B19 Infektionen assoziiert (26). Jedoch wurde mittlerweile mehrfach gezeigt, dass die NS1 IgG Reaktivität bei infizierten Personen unabhängig vom Schweregrad oder der Symptomatik ist. IgG Antikörper gegen NS1 können in der Regel ca. 6-8 Wochen nach dem Erregerkontakt erscheinen (20,25,16,8).

2. IgM Antikörper Nachweis deutet auf akute Infektionen hin, reicht aber alleine nicht aus, denn IgM negative Patienten können sich dennoch in der akuten Infektionsphase befinden (18). In der Regel erscheinen IgM Antikörper erstmalig 7-10 Tage nach der Infektion. Allgemein fällt die IgM Antwort im Laufe der folgenden 3 Monate ab. Häufig ist bereits 3 Wochen nach Viruskontakt ein IgM Nachweis nicht mehr möglich (9,10,17,27,4,18,1,15). Zu dieser Zeit können die Patienten, insbesondere schwangere Frauen, noch virämisch sein und daher noch in der akuten Phase (18,6). IgM Antikörper sind hauptsächlich gegen VP2 spezifische Epitope gerichtet (17). Dabei spielen sowohl lineare als auch Konformationsepitope eine wichtige Rolle (27,18,15,7). Im Fall der Konformationsepitope erscheinen Antikörper gegen VP1 und VP2 etwa zeitgleich nach der Infektion wobei die IgM Antikörper gegen lineare VP1 Epitope etwas länger persistieren als gegen lineare VP2 Epitope (27,18,15,7). IgM Antikörper gegen NS1 haben in der Regel keine diagnostische Bedeutung (27,18,15,7). Generell nehmen IgM

Parvovirus B19 ViraChip® IgM Test Kit 2.0

- 6 -

Antikörper gegen Parvovirus B19-spezifische Antigene innerhalb der ersten 3 Monate ab (12,3,13,9,22,14,19,27,4,18,15).

3. IgA Antikörper sind nach Erscheinen der klinischen Symptome in ca. 50 % der Fälle für kurze Zeit detektierbar und haben in der Regel keine zusätzliche diagnostische Bedeutung (7).

Leistungsdaten
Korrelation mit Referenztesten, Seroprävalenz und Kreuzreaktivität

Zur Bestimmung der Korrelation wurden positive und negative Seren aus unterschiedlichen Kollektiven mit dem **Parvovirus B19 ViraChip® IgM** im Vergleich zu jeweils einem Referenztest ELISA bzw. IFT bzw. Parvovirus B19 ViraStripe® IgM untersucht.

Virus DNA-positive Seren (10 ³ -10 ¹² IU/ml*)	Referenztest ELISA		Referenztest IFT		Referenztest Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	
	n = 30		n = 30		n = 30	
Parvovirus B19 ViraChip® IgM	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Positiv	13	0	13	0	12	1
Negativ	1	16	1	16	0	17
	Korrelation: 97 %		Korrelation: 97 %		Korrelation: 97 %	

*) IU/ml entspricht annähernd Genomäquivalenten pro ml Blut

Seren gesunder Personen	Referenztest ELISA		Referenztest IFT		Referenztest Parvovirus B19 ViraStripe® IgM	
	n = 197		n = 197		n = 197	
Parvovirus B19 ViraChip® IgM	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ	Positiv	Negativ
Positiv	0	2	1	1	2	0
Negativ	1	194	2	193	0	195
	Korrelation: 98 %		Korrelation: 98 %		Korrelation: 100 %	

Parvovirus B19 ViraChip® IgM	IgM Seroprävalenz bei Blutspendern (unselektioniert)	IgM Reaktivität bei potentiell kreuzreaktiven Seren*
	n = 130	n = 56
Positiv	1	3
Negativ	129	53
	Seroprävalenz: <1,0 %	

*) Potentiell kreuzreaktive Seren (HHV6 n = 1, HHV7 n = 10, HSV n = 22, Masern n = 2, Mumps n = 13, Rubella n = 11, VZV n = 13)

Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausrüstung (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: Verschlösse 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 **Parvovirus B19 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 (24).
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 (23).
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 (23).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (23).
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 Waschschritte 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. ANDERSON, MJ et al.: Experimental parvoviral infection in humans, J Infect Dis, 1985
2. BROWN, CS et al.: Assembly of empty capsids by using baculovirus recombinants expressing human parvovirus B19 structural proteins, J Virol, 1991
3. BROWN, CS et al.: Localization of an immunodominant domain on baculovirus-produced parvovirus B19 capsids: correlation to a major surface region on the native virus particle, J Virol, 1992
4. CORCORAN, A et al.: Bcell memory is directed toward conformational epitopes of parvovirus B19 capsid proteins and the unique region of VP1, J Infect Dis, 2004
5. DORSCH S, et al.: The VP1-unique region of parvovirus B19: amino acid variability and antigenic stability, J General Virology Vol, 2001
6. ENDERS, M et al.: Human parvovirus B19 infection during pregnancy - value of modern molecular and serological diagnostics, J Clin Virol, 2006
7. ERDMANN, DD et al.: Human Parvovirus B19 specific IgG, IgA and IgM antibodies and DNA in serum specimens from persons with erythema infectiosum, J Med Virol, 1991
8. JONES LP, et al.: Antibodies to human Parvovirus B19 nonstructural protein in persons with various clinical outcomes following B19 infection, J Infect Dis Vol, 1999
9. JORDAN, JA: Comparison of a baculovirus-based VP2 enzyme immunoassay (EIA) to an Escherichia coli-based VP1 EIA for detection of human Parvovirus B19 immunoglobulin M and immunoglobulin G in sera of pregnant women, J Clin Microbiol, 2000

Parvovirus B19 ViraChip® IgM Test Kit 2.0

- 8 -

10. JORDAN, JA: Diagnosing Human parvovirus B19 infection: Guidelines for test selection, Mol Diagn, 2001
11. KAIKKONEN, L et al.: Acute-Phase-Specific Heptapeptide Epitope for Diagnosis of Parvovirus B19 Infection, Clin Microbiol, 1999
12. KAJIGAYA, S et al.: Self-assembled B19 parvovirus capsids, produced in a baculovirus system, are antigenically and immunogenically similar to native virions, Proc Natl Acad Sci USA, 1991
13. KERR S, et al.: Udenaturated Parvovirus B19 antigens are essential for the accurate detection of Parvovirus B19 IgG, J Med Virol, 1999
14. MANARESI, E et al.: IgG immune response to Parvovirus B19 VP1 and VP2 linear epitopes by immunoblot assay, J Med Virol, 1999
15. MANARESI, E et al.: Differential IgM response to conformational and linear epitopes of Parvovirus B19 VP1 and VP2 structural proteins, J Med Virol, 2001
16. Mitchell LA, et al.: Lymphocyte recognition of human Parvovirus B19 non structural (NS1) protein: association with occurrence of acute and chronic arthropaty?, J Med Microbiol, 2001
17. MODROW S, et al.: Antibody responses in parvovirus B19 infected patients, Pathol Biol Vol, 2002
18. MODROW S, et al.: Parvovirus B19 Infection in Pregnancy, Dtsch Arzteblatt, 2006
19. ROS, C et al.: Conformational Changes in the VP1-Unique Region of Native Human Parvovirus B19 Lead to Exposure of Internal Sequences That Play a Role in Virus Neutralization and Infectivity, J Virol, 2006
20. SEARLE K, et al.: Development of antibodies to the nonstructural protein NS1 of Parvovirus B19 during acute symptomatic and subclinical infection in pregnancy: implication for pathogenesis doubtful, J Med Virol, 1998
21. SÖDERLUND M, et al.: Prokaryotic Expression of a VP1 Polypeptide Antigen for Diagnosis by a Human Parvovirus B19 Antibody Enzyme Immunoassay, J Clin Microbiol, 1992
22. SÖDERLUND M, et al.: Epitope type-specific IgG responses to capsid proteins VP1 and VP2 of human Parvovirus B19, J Infect Dis, 1995
23. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
24. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
25. VENTUROLI, S et al: IgG response to the immunoreactive region of parvovirus B19 nonstructural protein by immunoblot assay with a recombinant antigen, J infect Dis, 1998
26. VON POBLOTZKI, A et al.: Antibodies to Parvovirus B19 NS1 protein in infected individuals:, J Gen Virol, 1995
27. YOUNG, NS et al.: Parvovirus B19, New Engl J Med, 2004

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