

## Yersinia ViraChip® IgA Test Kit 2.0

### Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgA** Antikörpern gegen Proteine pathogener **Yersinia species** (z.B. *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*) Stämme in humanem Serum.

Der **Yersinia ViraChip® IgA Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem aufgereinigte Yersinia-spezifische Antigene an definierten Positionen auf Nitrozellulose gebunden werden.

Der Yersinia ViraChip® IgA Test Kit 2.0 ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt und erfüllt die Anforderungen von Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik („**MiQ**“ **9/2013**), die als Antigenquelle „Präparationen von Plasmid-codierten sezernierten Proteinen (Yops) von pYV-Plasmid-positiven Stämmen (auch rekombinant)“ empfehlen (12).

### 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 Yersinia-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 Yersinia-spezifischen Antigene **YopH**, **YopM**, **YopB**, **LcrV**, **YopD**, **YopN** und **YopE**.

Zur eindeutigen Kennzeichnung sind die Kavitäten farblich kodiert: Dazu ist der Yersinia ViraChip® IgA durch einen **zwei schwarze Viertelkreise** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	<b>V-YSCAOK</b>	Best.-Nr.:	<b>V-YSCADK (Deca Kit)</b>
Packungsgröße:	<b>MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten</b>	Packungsgröße:	<b>10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten</b>
Probenmaterial:	<b>10 µl Serum</b>	Probenmaterial:	<b>10 µl Serum</b>
Testdauer:	<b>ca. 130 Minuten</b>	Testdauer:	<b>ca. 130 Minuten</b>

### Kitinhalt

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

**Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung**, wird separat mitgeliefert

50 ml	<b>ViraChip® Sample Buffer</b>	(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	<b>Yersinia ViraChip® IgA, IgM Antigen Coated Wells (8)</b>	(Best.-Nr.: V-YSCNRT)
	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
330 µl	<b>Yersinia ViraChip® IgA Positive Control</b>	(Best.-Nr.: V-YSCAPK)
	IgA positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	<b>Yersinia ViraChip® IgM Positive Control</b>	(Best.-Nr.: V-YSCMPK)
	IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	<b>Yersinia ViraChip® IgG,A,M Negative Control</b>	(Best.-Nr.: V-YSCPNK)
	IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	

### Zusätzlich geforderte Ausrüstung

1. <b>ViraChip Software®</b>	zum Vorbereiten, Durchführen und Auswerten des Testlaufes, ab v1.3.0-1960	(Best.-Nr.: V-VCNUPR)
2. <b>2D-Barcode Scanner</b>	zum Lesen der DataMatrix-Codes	
3. <b>Mikrotiterplatte</b> mit 96 Leerkavitäten	zum Auffüllen angefangener Riegel der Mikrotiterplatte im Halterahmen	(Best.-Nr.: V-UVNMTP)
4. <b>Orbitalschüttler (750 rpm)</b> oder <b>Linearschüttler (20 Hz)</b>	zur Durchmischung von Proben und Reagenzien während der Prozessierung	
5. <b>ViraChip® Scanner</b> oder <b>ViraChip® Reader</b>	zur Digitalisierung / Messung entwickelter ViraChip® Teste, ab ViraChip® Scanner v1.0 bzw. ViraChip® Reader Rev.01	(Best.-Nr.: V-UVCSA) (Best.-Nr.: V-UVCCAM)
6. Optional: <b>Ventilator/ Lüfter</b>	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<sub>2</sub>O) verdünnen: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H<sub>2</sub>O

**Probenpuffer:** Gebrauchsfertig

## Yersinia ViraChip® IgA Test Kit 2.0

- 2 -

<b>Konjugatlösung:</b>	Gebrauchsfertig
<b>Chromogen / Substratlösung:</b>	Gebrauchsfertig
<b>MTP-Kavitäten:</b>	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.
<b>Patientenproben:</b>	Die Patientenproben werden in einer <b>1:76</b> Verdünnung eingesetzt, z.B. <b>10 µl Patientenprobe + 750 µl Probenpuffer</b> . Von der verdünnten Probe werden bei der Prozessierung 100 µl benötigt.
<b>Kontrollen:</b>	Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer <b>1:16</b> Verdünnung eingesetzt, z.B.: <b>10 µl Kontrollserum + 150 µl Probenpuffer</b> . Von der verdünnten Kontrolle werden bei der Prozessierung 100 µl eingesetzt.

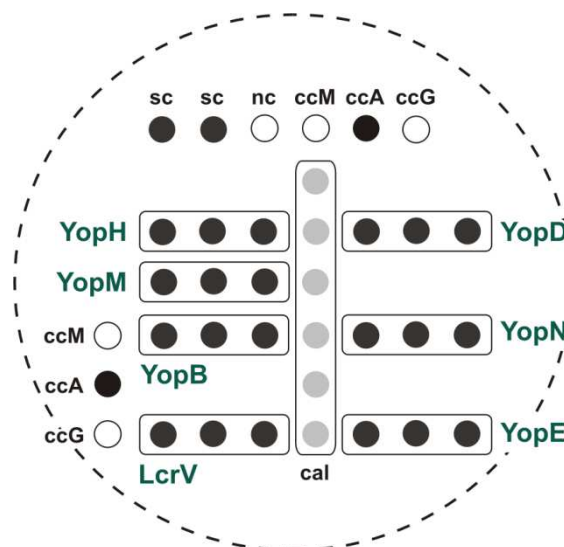
**Aufbau des Yersinia ViraChip® IgA Microarrays**
**Antigene:**

Jedes Yersinia-spezifische Antigen, **YopH**, **YopM**, **YopB**, **LcrV**, **YopD**, **YopN** und **YopE**, 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 (ccM), zwei IgM Konjugatkontrollen (ccA), zwei IgA Konjugatkontrollen (ccG) und sechs Kalibratorkontrollen (cal).



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

**Nomenklatur und Beschreibung der Yersinia Antigene aus der Literatur**

<b>Nomenklatur:</b>	<b>Antigen:</b>	<b>Bemerkungen:</b>
<b>YopH</b>	Yersinia outer protein <u>H</u> 51kD	Protein-Tyrosin-Phosphatase, greift in Signaltransduktionsvorgänge ein; im Zusammenhang mit YopE Blockierung der Phagozytose-fähigkeit der Makrophagen; Cytotoxin (25).
<b>YopM</b>	Yersinia outer protein <u>M</u> 44kD	Bindung an humanes $\alpha$ -Thrombin (16).
<b>YopB</b>	Yersinia outer protein <u>B</u> 41kD	Transmembranprotein, Porenbildner; Transport von YopE und YopH (4), TNF- $\alpha$ -Suppressor (1,9).
<b>LcrV</b>	Low calcium response Virulence 37 kD	Regulation der Yop-Gene, wichtig für den Transport, aktiver und passiver Immunisierungsschutz für Infektion (17).
<b>YopD</b>	Yersinia outer protein <u>D</u> 35kD	Transmembranprotein, Transport von YopE und YopH (18,9).
<b>YopN</b>	Yersinia outer protein <u>N</u> 33kD	Ca <sup>2+</sup> -Sensor, Yop Regulation (24).
<b>YopE</b>	Yersinia outer protein <u>E</u> 23kD	Inhibition der Phagozytose durch Depolymerisation der Actin-Filamente (1).

## 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 IgA** (ccA) über Grenzwert  
Die Konjugatkontrollen IgA 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
YopD Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten oder mindestens zwei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE	Positiv	Spezifische IgA Antikörper gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Eine Yersinia species Infektion ist wahrscheinlich.
Höchstens ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen von spezifischen IgA Antikörpern gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion das Vorhandensein von IgG- und IgM-spezifischen Antikörpern überprüfen und nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe untersuchen.

## Diagnostische Bedeutung von Yersinia Antikörpern

**1. IgG Antikörper** werden bei akuter Yersiniose, bei Yersinien assoziierten reaktiven Arthritiden und der chronischen Yersiniose gebildet (2,19,5). Im Frühstadium einer akuten Yersiniose sind sie nur schwach nachweisbar (2). Bei Verdacht auf eine frisch erworbene Infektion sollten daher eine IgM und eine IgA Bestimmung durchgeführt werden und nach 3-4 Wochen eine zweite Probe auf das Vorhandensein von IgG Antikörpern untersucht werden. IgG Antikörper persistieren häufig über 5 Jahre, mindestens aber 5 Monate nach Krankheitsbeginn (6,15). IgG Antikörper richten sich gegen alle sekretierten Proteine von Yersinia, am häufigsten jedoch gegen YopD, YopB, YopE, YopH und YopM (2,19).

**2. IgM Antikörper** treten stark bei akuter Yersiniose auf und persistieren 1-3 Monate nach Krankheitsbeginn (6,2,5,7). Bei Yersiniosen mit Spätfolgen (reaktiven Arthritiden und chronischen Enteritiden) sind IgM Titer selten (6,15,7). IgM kann bei Kindern und Erwachsenen in Einzelfällen schwach, verzögert oder nicht auftreten.

**3. IgA Antikörper** werden in der Frühphase der akuten Yersiniose stark gebildet (2,19). Bei Yersinien assoziierter reaktiver Arthritis richtet sich die IgA Antwort in ca. 90 % der Fälle gegen das YopD (2,19,20). Bei der chronischen Yersiniose sind IgA Antikörper gegen

YopD, YopB und YopE nachweisbar. Im Fall der Yersiniosen mit Spätfolgen persistieren IgA Antikörper meistens über Jahre, im Fall der Yersiniosen ohne Spätfolgen in der Regel nur über Monate (6,15,20,3,5,7,22,13,14). Antibiotika-Behandlung führt zu einer verstärkten Abnahme der IgA Titer (11).

**4.** Die Antikörperantwort und somit das Spotmuster unterscheidet sich von Patient zu Patient. Antikörper gegen pathogene Yersinien Stämme (*Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. pestis*) werden in der Regel erfasst (2).

**5.** *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*, Erreger der Yersiniose, können enterale Infektionen (Akuterkrankung) aber auch extra-intestinale Manifestationen (Folgeerkrankung) verursachen. Die meisten Fälle der enteralen Yersiniosen verlaufen unkompliziert. Allerdings kann es bei ca. 10% der Betroffenen im Anschluss zu Entzündungen der Gelenke (reaktive Arthritiden), der Harnwege und der Augen kommen. Reaktive Arthritiden sind postinfektiöse, entzündungsreumatische Gelenkerkrankungen, bei denen jedoch keine intraartikuläre Infektion vorliegt. „Die Diagnose der akuten Erkrankung stützt sich primär auf den Erregernachweis. Die Serodiagnostik ist zur ergänzenden Diagnostik der akuten Infektion geeignet, für die Aufklärung von Folgeerkrankungen essentiell“ (21).

## Leistungsdaten

### Sensitivität

Zur Bestimmung der Sensitivität wurden positive Seren mit dem Yersinia ViraChip® IgA relativ zum Yersinia ViraStripe® IgA untersucht:

Kollektiv	Yersinia ViraChip® IgA positiv, % (n)
<b>Positiv</b> mit dem Yersinia ViraStripe® IgA (n = 132)	<b>96%</b> (127)

### Spezifität

Zur Bestimmung der Spezifität wurden negative Seren mit dem Yersinia ViraChip® IgA relativ zum Yersinia ViraStripe® IgA untersucht:

Kollektiv	Yersinia ViraChip® IgA negativ, % (n)
<b>Negativ</b> mit dem Yersinia ViraStripe® IgA (n = 318)	<b>98%</b> (312)

### Seroprävalenz

Zur Bestimmung der Seroprävalenz von anti-Yersinia IgA Antikörpern wurden Blutspenderseren mit dem Yersinia ViraChip® IgA untersucht.

Kollektiv	Yersinia ViraChip® IgA positiv, % (n)
<b>Seren von Blutspendern</b> (n = 142)	<b>11%</b> (16) *

Bezogen auf das Vorhandensein von IgA Antikörpern gegen Yersinia species wurde in Referenzstudien gezeigt, dass etwa 10% der Blutspender ein positives Testergebnis aufweisen (8,10).

## 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 **Yersinia ViraChip® IgA 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 (23).
3. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu ungünstigen 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 (21).
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 (21).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (21).
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. BEUSCHER, HU et al.: Bacterial evasion of host immune defense: Yersinia enterocolitica encodes a suppressor for tumor necrosis factor alpha expression, *Infect Immun*, 1995
2. CREMER, J et al.: Immunoblotting of Yersinia plasmid-encoded released proteins: a tool for serodiagnosis, *Electrophoresis*, 1993
3. DE KONING, J et al.: Demonstration of spirochetes in cardiac biopsies of patients with Lyme disease, *J Infect Dis*, 1989
4. FORSBERG, A et al.: Regulation and polarized transfer of the Yersinia outer proteins (Yops) involved in antiphagocytosis *Trends in Microbiol*, 1994
5. GRANFORS, K: Measurement of immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA antibodies against Yersinia enterocolitica by enzyme-linked immunosorbent assay: persistence of serum antibodies during disease, *J Clin Microbiol*, 1979
6. GRANFORS, K et al.: Persistence of IgM, IgG, and IgA antibodies to Yersinia in yersinia arthritis, *J Infect*, 1980
7. GRANFORS, K & TOIVANEN, A: IgA-anti-yersinia antibodies in yersinia triggered reactive arthritis, *Ann Rheum*, 1986
8. HAMMER, M et al.: Yersinien-induzierte Arthritiden, *Wien Med Wochenschr*, 1990
9. HARTLAND, EL et al.: Contribution of YopB to virulence of Yersinia enterocolitica, *Infect Immun*, 1996
10. HEESMANN, J: Enteropathogenic yersinias: pathogenicity factors and new diagnostic methods, *Imm Infekt*, 1990
11. VERWEIJ, PE et al.: Interrepeat fingerprinting of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacter cloacae isolated during an outbreak in a neonatal intensive care unit, *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1992
12. KIST, M et al.: MiQ 9: Gastrointestinale Infektionen, Elsevier Urban & Fischer, 2013
13. LAHESMAA-RANTALA, R et al.: Avidity of antibodies against released proteins of Yersinia spp: comparison of patients with or without reactive arthritis, *Ann Rheum*, 1989
14. LARSEN, JH et al.: The determination of specific IgA-antibodies to Yersinia enterocolitica and their role in enteric infections and their complications, *Acta Pathol Microbiol Immunol*, 1985
15. MÄKI-IKOLA, O et al.: Combined use of released proteins and lipopolysaccharide in enzyme-linked immunosorbent assay for serologic screening of Yersinia infections, *J Infect*, 1991
16. REISNER, BS & STRALEY, SC: Yersinia pestis YopM: thrombin binding and overexpression, *Infect Immun*, 1992
17. RUCKDESCHEL, K et al.: Interaction of Yersinia enterocolitica with macrophages leads to macrophage cell death through apoptosis, *Infect Immun*, 1997
18. ROSQVIST, R et al.: The cytotoxic protein YopE of Yersinia obstructs the primary host defence, *Mol Microbiol*, 1990
19. STAHLBERG, TH et al.: Immunoblotting analysis of human IgM, IgG and IgA response to chromosomally coded antigens of Yersinia enterocolitica O:3, *JMed Microbiol*, 1987
20. STAHLBERG, TH et al.: Immunoblot analysis of IgM, IgG, and IgA responses to plasmid encoded released proteins of Yersinia enterocolitica in patients with or without yersinia triggered reactive arthritis, *Ann Rheum Dis*, 1989
21. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
22. TOIVANEN, A et al.: Association of persisting IgA response with yersinia triggered reactive arthritis: a study on 104 patients, *Ann Rheum*, 1987
23. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, *J Proteome Res*, 2009
24. VIITANEN, AM et al.: The lcrE gene is part of an operon in the lcr region of Yersinia enterocolitica O:3, *Mol Microbiol*, 1990
25. ZHANG, ZY et al.: Expression, purification, and physicochemical characterization of a recombinant Yersinia protein tyrosine phosphatase, Elsevier Urban & Fischer, 1992

Yersinia ViraChip® IgA Test Kit 2.0

- 7 -

**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