

Liver ViraChip® IgG Test Kit 2.0

Gebrauchsanweisung



Microarray auf Basis eines Enzym-Immunoassays zum qualitativen Nachweis von **IgG** Autoantikörpern gegen spezifische **Leber** Antigene in humanem Serum im Rahmen der Autoimmundiagnostik.

Der **Liver ViraChip® IgG Test Kit 2.0** verwendet folgende aufgereinigte Leber-spezifische Antigene: M2-Mitochondrienkomplex (**AMA-M2**), Kernprotein 100 kD (**sp100**), Glykoprotein 210 kD (**gp210**), Leber-Zytosol Antigen Typ1 (**LC1**), Leber-Nieren-Mikrosomen (**LKM-1**) und lösliches Leberantigen (**SLA**).

Der Liver ViraChip® IgG Test Kit 2.0 ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt.

Testprinzip

Am Boden jeder Kavität der 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) des ViraChip® Test Kits befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der Antigene als Analytspots fixiert sind (Microarray).

Zum Antikörpernachweis wird zunächst jeweils eine verdünnte Serumprobe in je eine ViraChip® Kavität gegeben und inkubiert. Wenn entsprechende Antikörper in der Serumprobe vorhanden sind, binden diese unter Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen an die fixierten Analytspots.

Nach mehrmaligem Waschen erfolgt die Zugabe von mit Alkalischer Phosphatase gekoppeltem anti-Human-IgG-Konjugat und eine anschließende Inkubation. Während dieser Inkubation bindet das Konjugat an vorhandene Antigen-Antikörper-Komplexe.

Nach erneutem Waschen und Zugabe der Chromogen / Substratlösung setzt die in den Antigen-Antikörper-Konjugat-Komplexen befindliche Alkalische Phosphatase das Chromogen / Substrat um und färbt damit die Analytspots auf dem Microarray lila bis schwarz an. Nach weiteren Wasch- und Trocknungsschritten werden die Analytspot-Intensitäten gemessen und mittels ViraChip® Software ausgewertet.

Jeder Microarray beinhaltet neben den Analytspots folgende Kontrollspots: **Serumkontrollen**, **Konjugatkontrollen**, **Kalibratorkontrollen** und eine **Negativkontrolle**. Die Analytspots dienen dem Nachweis von Antikörpern gegen die Leber-spezifischen Antigene **AMA-M2**, **sp100**, **gp210**, **LC1**, **LKM-1** und **SLA**.

Zur Kennzeichnung sind die Kavitäten der Mikrotiterplatte farblich kodiert:

Dazu ist der Liver ViraChip® IgG durch einen **grauen Vollkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	V-LICGOK
Packungsgröße:	1 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten
Probenmaterial:	10 µl Serum
Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

1 MTP à 96 Kavitäten	Liver ViraChip® IgG Antigen Coated Wells Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-LICGAC)
12 ml	ViraChip® AP-Anti-Human IgG Conjugate Anti-human IgG Konjugatlösung für ViraChip® Teste, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCGKI)
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-UVUCUS)

Zusätzlich erforderlicher Puffer für die Probenverdünnung, wird separat mitgeliefert

50 ml	ViraChip® Sample Buffer Probenpuffer für ViraChip® Teste, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVCUUP)
-------	---	-----------------------

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	Liver ViraChip® IgG Antigen Coated Wells (8) Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-LICGRT)
330 µl	Liver ViraChip® IgG Positive Control IgG positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-LICGPK)
330 µl	Liver ViraChip® IgG Negative Control IgG negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-LICGNK)

Zusätzlich geforderte Ausrüstung und benötigtes Material

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-UVNMTP)
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-UVCSA) (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

Liver ViraChip® IgG 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 für die Prozessierung 100 µl pro Kavität 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 für die Prozessierung 100 µl pro Kavität eingesetzt.

Aufbau des Liver ViraChip® IgG Microarrays
Antigene:

 Jedes Leber-spezifische Antigen, **AMA-M2, sp100, gp210, LC1, LKM-1** und **SLA**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen.

Kontrollen:

Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:

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

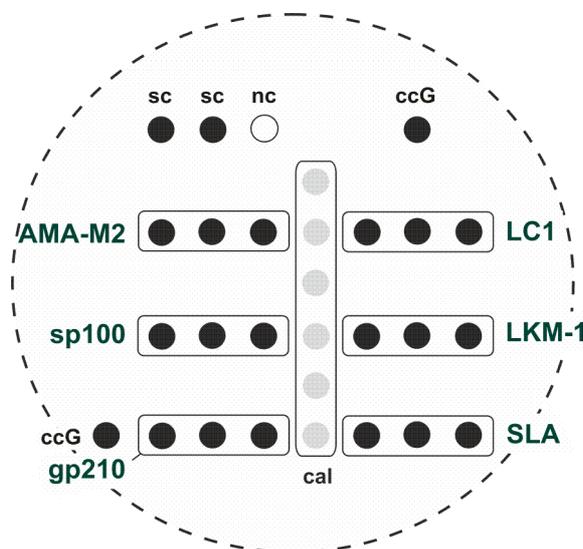


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem Liver ViraChip® IgG Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der Liver Antigene aus der Literatur

Antigen:	Bemerkungen:
AMA-M2 (70 kD)	M2-Mitochondrien-Komplex
sp100 (100 kD)	Kernprotein 100kD
gp210 (210 kD)	Glykoprotein 210 kD
LC1 (60 kD)	Leber-Zytosol Antigen Typ1
LKM-1 (56 kD)	Leber-Nieren-Mikrosomen
SLA (52 kD)	Lösliches Leberantigen

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. Einzelheiten sind im Abschnitt „Hinweise zu Geräten und Software“ beschrieben.

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 IgG** (ccG) über Grenzwert
Die Konjugatkontrollen IgG 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 ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: AMA-M2, sp100, gp210, LC1, LKM-1, SLA	Positiv	IgG-spezifische Autoantikörper sind gegen das jeweilige Antigen nachweisbar: AMA-M2, sp100, gp210, LC1, LKM-1, SLA . Hinweis auf eine Autoimmunerkrankung, die mit dem/den nachweisbaren Leber Autoantikörper(n) assoziiert ist.
Kein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an IgG-spezifischen Autoantikörpern gegen Leber Antigene nachweisbar.

Diagnostische Bedeutung von Leber Autoantikörper

- 1. AMA-M2:** Ca. 90% der PBC Patienten bilden Autoantikörper gegen M2-PDH (3). Die AMA-M2 (70 kD) Autoantikörper gegen E2 Untereinheit des Pyruvatdehydrogenase Komplexes (PDH) gehören zu den anti-mitochondrialen Autoantikörpern des M2 Typs und sind hochspezifisch für primäre biliäre Cholangitis (7,2,1).
- 2. sp100:** Bei ca. 30% der Patienten mit Primär biliärer Cholangitis können Autoantikörper gegen sp100 nachgewiesen werden (8,4). Die Spezifität für PBC liegt bei etwa 97%. Der Nachweis von Autoantikörpern gegen sp100 ist besonders hilfreich bei Patienten mit PBC-Verdacht welche keine anti-mitochondrialen Antikörper (AMA) aufweisen (ca. 48%). Bei SLE und beim Sjögren Syndrom werden selten sp100-Antikörper gefunden (10 bzw. 2% der Fälle) (4).
- 3. gp210** Die Bildung von Autoantikörpern gegen gp210 wurden nahezu ausschließlich bei Patienten mit PBC beschrieben (10% - 40%). Sie können auch bei PBC-Patienten ohne anti-mitochondriale Antikörper vorkommen (bis zu 45 % der anti-Mitochondrien Antikörper negativen Patienten) (8,4).

- 4. LC1** Ca. 59% der Patienten mit AIH Typ 2 bilden LC1 Autoantikörper (5). Die Autoantikörper sind gegen den Enzymkomplex Formiminotransferase-Cyclodeaminase gerichtet. Diese Autoantikörper sind mit der chronischen autoimmunen Hepatitis Typ 2 assoziiert.
- 5. LKM-1** Bei 100% der Patienten mit AIH Typ 2 sind Autoantikörper gegen LKM-1 nachweisbar (8). Die LKM-1 Autoantikörper reagieren mit dem Cytochrom P-450 Komplex und sind hochspezifisch für autoimmune Hepatitis Typ 2 (7,2,1). AIH Typ 2 kommt bevorzugt bei Kindern, insbesondere Mädchen, vor und zeigt bei diesen häufig einen rasch fortschreitenden Krankheitsverlauf (7,2). Bei erwachsenen Patienten, die positiv für LKM-1 Autoantikörper sind, sind häufig auch Hepatitis C Virus Antikörper nachweisbar (8).
- 6. SLA** Bei ca. 25-30% der Patienten finden sich SLA Autoantikörper mit autoimmuner Hepatitis Typ 1 und sind bei diesen Patienten häufig die einzigen nachweisbaren Autoantikörper (8,6). Die SLA Autoantikörper sind hochspezifisch für autoimmune Hepatitis Typ 1 (AIH Typ 1) (7,2,1,10). AIH Typ 1 kommt bevorzugt bei Frauen im Alter zwischen 30 und 40 Jahren vor (7).

Leistungsdaten

Diagnostische Sensitivität und Spezifität

Antigen: AMA-M2	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	59	9
Negativ	0	256
	Sensitivität = 100%	Spezifität = 97%

Tabelle 1: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen AMA-M2 untersucht.

Antigen: gp210	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	21	0
Negativ	0	303
	Sensitivität = 100%	Spezifität = 100%

Tabelle 3: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen gp210 untersucht.

Antigen: LKM-1	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	21	3
Negativ	1	299
	Sensitivität = 95%	Spezifität = 99%

Tabelle 5: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen LKM-1 untersucht.

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.

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.

Antigen: sp100	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	25	2
Negativ	1	296
	Sensitivität = 96%	Spezifität = 99%

Tabelle 2: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen sp100 untersucht.

Antigen: LC1	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	4	3
Negativ	0	317
	Sensitivität = 100%	Spezifität = 99%

Tabelle 4: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen LC1 untersucht.

Antigen: SLA	Liver ViraStripe® IgG	
Liver ViraChip® IgG	Positiv	Negativ
Positiv	5	2
Negativ	1	316
	Sensitivität = 83%	Spezifität = 99%

Tabelle 6: 324 Seren, davon 182 Routineseren und 142 gesunde Blutspender wurden mit dem Liver ViraChip® IgG im Vergleich zum Liver ViraStripe® IgG auf das Vorhandensein von Autoantikörper gegen SLA untersucht.

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

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

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 Liver ViraChip® IgG 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 (9).
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 (8).
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 (8).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (8).
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. Abweichendes Prozessieren wie z.B. 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 nicht gewährleistet sind.

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. BERG, PA et al.: Serologische Befunde bei Autoimmunerkrankungen der Leber, Lab Med, 1989
2. BERG, PA et al.: Antimitochondrial Antibodies in Primary Biliary Cirrhosis and Other Disorders, Dig Dis, 1992
3. BERG, PA et al.: Klinische Relevanz von Autoantikörpern bei chronischen Lebererkrankungen, Z Ärztliche Fortb, 1994
4. CONRAD, K et al.: Autoantibodies in Organ Specific Autoimmune Diseases, Pabst Science Publishers, 2011
5. HOMBERG, JC et al.: Liver Cytosol Antigen Type 1 autoantibodies, Elsevier, 1996
6. LOHSE, A W & BÜSCHENFELDE, KM: Differentialdiagnose und Therapie der autoimmunen Hepatitis, Dtsch Arztebl, 1994
7. MANNES, MP: Autoimmune Diseases of the Liver, Clinics in Laboratory Medicine, 1992
8. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
9. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
10. WÄCHTER, B et al.: Charakterization of Liver cytochrome c as a major target of anti-SLA antibodies, J of Hepatology, 1990

Liver ViraChip® IgG 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