

CMV ViraChip® IgM Test Kit

Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgM** Antikörpern gegen spezifische Antigene des **humanen Zytomegalievirus (CMV; Human betaherpesvirus 5, HHV-5)** in humanem Serum.

Der **CMV ViraChip® IgM Test Kit** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem aufgereinigte spezifische Antigene des **Zytomegalievirus** - Nichtstruktur-, Tegument- und Glykoproteine - an definierten Positionen auf Nitrozellulose gebunden werden.

Der CMV ViraChip® IgM Test Kit ist nach der Richtlinie **98/79/EG** hergestellt und unterliegt der Klassifizierung als ANNEX IIB Medizinprodukt.

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 CMV-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 CMV-spezifischen Antigene **IE1, IE2, p52, p130, p150-1, p150-XP1, p65, p38, gL** und **gB**.

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

Best.-Nr.:	V-CMCMOK	Best.-Nr.:	V-CMCMOK (Deca Kit)
Packungsgröße:	MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten	Packungsgröße:	10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten
Probenmaterial:	10 µl Serum	Probenmaterial:	10 µl Serum
Testdauer:	ca. 130 Minuten	Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten	CMV ViraChip® IgM Antigen Coated Wells Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-CMCMAC)
1x bzw. 10x 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)
1x bzw. 10x 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)
1x bzw. 10x 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	CMV ViraChip® IgM Antigen Coated Wells (8) Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-CMCMRT)
330 µl	CMV ViraChip® IgM Positive Control IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-CMCMKP)
330 µl	CMV ViraChip® IgM Weak Positive Control IgM schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-CMCMWK)
330 µl	CMV ViraChip® IgG,A,M Negative Control IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-CMCPNK)

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-UVCSCAM)
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

CMV ViraChip® IgM Test Kit

- 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 CMV ViraChip® IgM Microarrays
Antigene:

Jedes CMV-spezifische Antigen, **IE1, IE2, p52, p130, p150-1, p150-XP1, p65, p38, gL** und **gB**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Jedes Spottriplett entspricht einer Bande im 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).

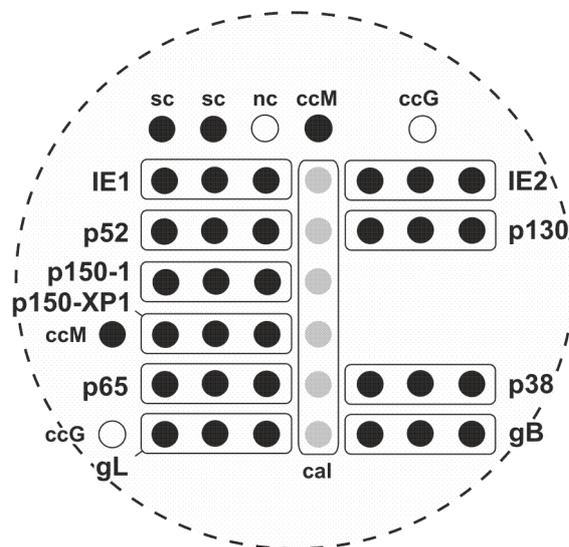


Abbildung 1: Abbildung einer Kavität aus der Mikrotiterplatte mit dem CMV ViraChip® IgM Microarray (vergrößert). Anordnung der Spottriplets für Antigene und der Spots für integrierte Kontrollen.

Nomenklatur und Beschreibung der CMV Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
IE1	Immediate-Early Protein 1, Nicht-Strukturprotein, pUL123	Die immediate early Proteine IE1 und IE2 sind die ersten viralen Genprodukte, die nach der Infektion in den Wirtszellen gebildet werden (6).
IE2	Immediate-Early Protein 2, Nicht-Strukturprotein, pUL122	Die immediate early Proteine IE1 und IE2 sind die ersten viralen Genprodukte, die nach der Infektion in den Wirtszellen gebildet werden (6).
p52	Nicht-Strukturprotein, pUL44	DNA Polymerase Prozessivitätsfaktor – ein wesentlicher Bestandteil des Replikationskomplexes (9).
p130	Nicht-Strukturprotein, pUL57	Major DNA-binding Protein (9)
p150-1	Tegumentprotein, pUL32, Fragment 1	Großes phosphoryliertes Strukturprotein (7,12)
p150-XP1	Tegumentprotein, pUL32, Fragment XP1	Großes phosphoryliertes Strukturprotein (7,12)
p65	Tegumentprotein, pUL83	Phosphoryliertes Strukturprotein (9)
p38	Tegumentprotein, pUL80a	Phosphoryliertes Strukturprotein (5)
gL	Glykoprotein L, pUL115	Virion Envelope Glykoprotein (10)
gB	Glykoprotein B, pUL55	Typ 1 Transmembranprotein (3), Sequenzidentität mit HSV-1: 24.2% bzw. mit EBV 30.2% (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 Probanden in den Belegungsplan der ViraChip® Software.

2. Bestücken

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

3. Prozessieren

Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.

3.1 Vorbereitung

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

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

3.2 Vorinkubation

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

3.3 Seruminkubation

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

3.4 3 x waschen

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

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

3.5 Konjugatinkubation

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

Die Kavitätenböden müssen während den Inkubationsschritten 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 Waschschriffe 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: IE1, IE2, p52, p130, p150-1, p150-XP1, p65, p38, gL oder gB	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen CMV nachweisbar. Eine CMV Infektion ist wahrscheinlich.
Höchstens ein Spottriolett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen IgM Antikörpern gegen CMV nachweisbar. Bei Verdacht auf eine frische Infektion nach 2 bis 3 Wochen eine zweite Probe auf IgM- und IgG-spezifische Antikörper untersuchen.

Diagnostische Bedeutung von CMV Antikörpern

1. IgG Antikörper sind bei einer Primärinfektion nach wenigen Wochen nachweisbar (8). Der Nachweis einer IgG Serokonversion gilt als Beweis einer Primärinfektion (11). Anti-gB IgG Antikörper sind frühestens etwa drei Monate nach Serokonversion nachweisbar (11). Ca. 18% der CMV Seropositiven zeigen bei länger zurückliegender Infektion keine anti-gB IgG-Reaktivität (11,2).

2. IgM Antikörper treten etwa 2-3 Wochen nach einer Primärinfektion erstmals auf (8). Die Titer sinken in der Regel einige Wochen bis Monate nach Infektion ab, können jedoch bis zu 12

Monaten persistieren (9,8,11,2). Spezifische CMV IgM Antikörper können sowohl bei Rekurrenz als auch bei Koinfektion mit Epstein-Barr-Virus oder Parvovirus B19 und bei Autoimmunerkrankungen nachgewiesen werden (11, 4). Der alleinige Nachweis von anti-CMV IgM-Antikörpern reicht daher nicht aus, um eine Primärinfektion zu bestätigen (11,2).

3. Kreuzreaktionen mit CMV-Antigenen, insbesondere bei der Bestimmung von IgM Antikörpern, sind bei Infektionen mit Epstein-Barr-Virus (11) oder Parvovirus B19 als auch bei Autoimmunerkrankungen (11,4) beschrieben.

Leistungsdaten

Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden Seren von Patienten mit dem Verdacht einer kürzlichen bzw. frischen CMV Infektion und mit positiver Reaktivität in zwei Vergleichstesten mit dem CMV ViraChip® IgM untersucht.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgM positiv, % (n)
Positiv (n = 25)	>99% (25)

Zur Bestimmung der analytischen Sensitivität wurden Seren mit positiver Reaktivität in einem Referenztest mit dem CMV ViraChip® IgM untersucht.

Kollektiv (CLIA IgM positiv)	CMV ViraChip® IgM positiv, % (n)
------------------------------	--------------------------------------------

CMV ViraChip® IgM Test Kit

- 5 -

Positiv (n = 32)	91% (29)
Kollektiv (Immunoblot IgM positiv)	CMV ViraChip® IgM positiv, % (n)
Positiv (n = 37)	87% (32)

Spezifität

Zur Bestimmung der diagnostischen Spezifität wurden Seren von Patienten mit erwarteter negativer Reaktivität mit dem CMV ViraChip® IgM untersucht. Alle diese Proben waren in Vergleichstesten (CLIA, ELISA) negativ.

Kollektiv	CMV ViraChip® IgM negativ, % (n)
Negativ (n = 291)	94% (274)

Prävalenz

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

Kollektiv	CMV ViraChip® IgM positiv, % (n)
Seren von Blutspendern und Schwangeren (n = 299)	6% (19)

Zur Bestimmung der Leistungsdaten wurde die ViraChip® Software 1.3.0 sowie der ViraChip® Scanner v1.0 und der ViraChip® Reader Rev.03 verwendet.

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.

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 **CMV ViraChip® IgM Test Kit** ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.
2. Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (14).
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. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten durch medizinisches Fachpersonal erfolgen (13).
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 (13).
5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (13).
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.

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 bereitgestellten 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. BURKE & HELDWEIN: Crystal Structure of the Human Cytomegalovirus Glycoprotein B, PLoS Path, 2015
2. HAMPRECHT, K: Stolpersteine in der pränatalen HCMV-Diagnostik - Stellenwert von IgM und IgG-Avidität, Diagnostik im Dialog, 2017
3. KINZLER, ER: Characterization of human cytomegalovirus glycoprotein-induced cell-cell fusion, J Virol, 2005
4. LAZZAROTTO, T et al: Update on the prevention, diagnosis and management of cytomegalovirus infection during pregnancy, Clin Microbiol Infect, 2011
5. LOVELAND, AN: The amino-conserved domain of human cytomegalovirus UL80a proteins is required for key interactions during early stages of capsid formation and virus production, J Virol, 2007
6. PAULUS, C: The Human Cytomegalovirus Major Immediate-Early Proteins as Antagonists of Intrinsic and Innate Antiviral Host Responses, Viruses, 2009
7. PLACHTER, B: Prokaryotic expression of phosphorylated tegument protein pp65 of human cytomegalovirus and application of recombinant peptides for immunoblot analyses, J Clin Microbiol, 1990
8. PRINCE, H E & LAPÉ-NIXON, M: Role of Cytomegalovirus (CMV) IgG Avidity Testing in Diagnosing Primary CMV Infection during Pregnancy, Clinical and Vaccine Immunology, 2014
9. REVELLO, MG: Diagnosis and management of human cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant, Clin Microbiol Rev, 2002
10. RYCKMAN, BJ: Characterization of the human cytomegalovirus gH/gL/UL128-131 complex that mediates entry into epithelial and endothelial cells, EMS Microbiol, 2008
11. HAMPRECHT, K: Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, S2K Leitlinie, AWMF Registernummer 0093/001, AWMF, 2014
12. SCHOLL, BC: Prokaryotic expression of immunogenic polypeptides of the large phosphoprotein(pp150) of human cytomegalovirus, J Gen Virol, 1988
13. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
14. TUCK et al: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009

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