

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

Gebrauchsanweisung



Zweckbestimmung:

Der Viramed® **Treponema + VDRL ViraChip® IgM** ist ein nicht-automatischer in-vitro Immunoassay zum qualitativen Nachweis von IgM Antikörpern gegen *Treponema pallidum* und semiquantitativen Nachweis von IgM Antikörpern gegen VDRL in humanem Serum und Plasma (Antikoagulantien Natriumcitrat, Lithium-Heparin, K2 EDTA). Der Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit wird von der Viramed® Biotech AG, Behringstr.11, 82152 Planegg hergestellt. Der Test ist nur von Fachpersonal durchzuführen, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde. Nicht für Laien-Anwender.

Mittels des Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Tests können Proben, die in einem Screening-/Suchtest für Treponemenantikörper oder im VDRL Test positiv oder grenzwertig reagieren, bestätigt werden. Der Test kann aber auch jederzeit nach Symptombeginn bzw. im weiteren Erkrankungs- bzw. Therapie-Verlauf eingesetzt werden. Der Test dient als Hilfsmittel zur Bestimmung des Infektionsstatus generell und bei der Diagnose im Pränatal Screening von schwangeren Frauen, um deren Immun- / Antikörper-Status zu detektieren.

Dieser Test dient nur als Hilfsmittel zur Diagnose. Der Test soll keine umfassenden Bewertungen und Behandlungsstrategien ersetzen. Der Test ist nicht als Screeningmethode im Bereich Transfusion, Transplantation oder Zellübertragung geeignet. Das Testergebnis ist in der Zusammenschau mit Symptomen, Patientenhistorie, anderen klinischen Befunden und Testergebnissen zu sehen, wie z.B. kulturellem Erregernachweis, Antigennachweis, NAT/PCR, IgG anti-Treponema oder VDRL Antikörpernachweis, Nachweis neutralisierender Antikörper, sowie anderer serologischer und nicht-serologischer Nachweismethoden und Testergebnisse bezüglich aktueller Leitlinien und diagnostischer Empfehlungen.

Positive oder grenzwertige Testergebnisse zeigen messbare Antikörper an; sie geben einen Hinweis auf eine Exposition gegenüber *Treponema pallidum* und sind als Symptom zu werten. Rückschlüsse auf eine Infektion, den Infektions- bzw. Immunstatus sind nur bedingt möglich. Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.

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 Probe in je eine ViraChip® Kavität gegeben und inkubiert. Wenn entsprechende Antikörper in der Probe 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-IgM-Konjugat und eine anschließende Inkubation. Während dieser Inkubation bindet das Konjugat an vorhandene Antigen-Antikörper-Komplexe.

Nach erneuter 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 *Treponema pallidum*- und VDRL- Antigene: **VDRL-1/2/3, p47, p44.5, p17 und p15**

Zur Kennzeichnung sind die Kavitäten der Mikrotiterplatte farblich kodiert:

Dazu ist der Treponema + VDRL ViraChip® IgM durch einen **roten Viertelkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	V-TVCMOK	Best.-Nr.:	V-TVCMOK (Deca Kit)
Packungsgröße:	1 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten	Packungsgröße:	10 MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten
Probenmaterial:	20 µl	Probenmaterial:	20 µl Serum
Testdauer:	ca. 130 Minuten	Testdauer:	ca. 130 Minuten

Kitinhalt

1 bzw. 10 MTP à 96 Kavitäten	Treponema + VDRL ViraChip® IgM Antigen Coated Wells	(Prod.-Nr.: V-TVCMAC)
	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
1x bzw. 10x 12 ml	ViraChip® AP-Anti-Human IgM Conjugate	(Best.-Nr.: V-UVCMKI)
	Anti-human IgM Konjugatlösung für ViraChip® Teste, aus Ziege, mit boviner alkalischer Phosphatase, gebrauchsfertig	
3x bzw. 30x 55ml	ViraChip® Wash Buffer Plus (Ready-to-Use)	(Best.-Nr.: V-UVCPWP)
	Waschpuffer Plus für ViraChip® Teste, mit Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, gebrauchsfertig	
1x bzw. 10x 12 ml	ViraChip® Chromogen / Substrate Solution	(Best.-Nr.: V-UVCUCS)
	Chromogen/Substratlösung für ViraChip® Teste, mit BCIP / NBT, gebrauchsfertig	
1x bzw. 10x 50ml	ViraChip® Sample Buffer Plus (Ready-to-Use)	(Best.-Nr.: V-UVCPPP)
	Probenpuffer Plus für ViraChip® Teste, gebrauchsfertig	

Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	Treponema + VDRL ViraChip® IgM Antigen Coated Wells (8)	(Best.-Nr.: V-TVCMRT)
	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig	
330 µl	Treponema + VDRL ViraChip® IgM Positive Control	(Best.-Nr.: V-TVCMCPK)
	IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	Treponema + VDRL ViraChip® IgM Weak Positive Control	(Best.-Nr.: V-TVCMWK)
	IgM schwach positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	
330 µl	Treponema + VDRL ViraChip® IgG,A,M Negative Control	(Best.-Nr.: V-TVCPNK)
	IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	

Nomenklatur und Beschreibung der Treponema + VDRL Antigene aus der Literatur

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
VDRL-1/2/3	Veneral Disease Research Laboratory Antigen	Lipidmischung aus Cholesterin, Lecithin und Cardiolipin
p47 47 kD	Hauptmembranprotein Hochspezifisch	Stark immunogenes Lipoprotein, das Endothelialzellen aktiviert (3).
p44.5 44,5 kD	Membranprotein Hochspezifisch	Lipoprotein mit einem Molekulargewicht von 44,5 kD (3).
p17 17 kD	Hauptmembranprotein Hochspezifisch	Lipoprotein, das die Aktivierung von Makrophagen induziert (3).
p15 15 kD	Protein Hochspezifisch	Lipoprotein, das bei der Zell-vermittelten Immunantwort von Bedeutung ist (3).

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Die Prozessierung von Proben auf ViraChip® Antigen Coated Wells kann mit folgenden Pipettierrobotern / ELISA-Prozessoren automatisiert werden: GEMINI, BEP2000, ETI-MAX3000, SERION Immunomat, Euroanalyzer I, Euroanalyzer I-2P, EVOLIS, EVOLIS Twin-Plus, ThunderBolt ELISA, ThunderBolt ELISA + CLIA, DS2, DSX, Agility, Agility Integra. 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.

Die im Folgenden aufgeführte Arbeitsvorschrift gilt für manuelle Prozessierung mit separaten, generischen Laborgeräten wie Pipetten, Schüttler und ELISA-Washer und muss exakt eingehalten werden.

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 250 µl Probenpuffer zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.3 Probeninkubation

- 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 250 µl Waschpuffer zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.5 Konjugatinkubation

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

3.6 3 x waschen

- Je Kavität 250 µl Waschpuffer zugeben.
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.7 1 x waschen

- Je Kavität 250 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- 1 Minute bei RT inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

3.8 Substratinkubation

- Je Kavität 100 µl Chromogen/Substratlösung zugeben.

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

Die Kavitätenböden müssen während der Inkubationsschritte vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

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.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 4 -

- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Stoppen: Flüssigkeit absaugen.

3.9 3 x waschen

- Je Kavität 250 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.

Negativkontrolle: Der Befund der Negativkontrolle muss negativ sein.

Positivkontrolle: Der Befund der Positivkontrolle muss positiv sein.

Schwach Positivkontrolle: Der Befund der Schwach Positivkontrolle muss positiv sein.

Die **Treponema + VDRL ViraChip® IgG,A,M Negative Control** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt werden.

Die **Treponema + VDRL ViraChip® IgM Positive Control** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt werden.

Die **Treponema + VDRL ViraChip® IgM Weak Positive** kann zu Validierungszwecken in den Testläufen eingesetzt 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 zwei Spottriplets ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: p47, p44.5, p17, p15 oder p47 Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten plus mindestens ein Spottriplett ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten oder p17 Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten plus mindestens ein Spottriplett ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten oder p15 Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten plus mindestens ein Spottriplets ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten	Positiv	Spezifische IgM Antikörper gegen <i>Treponema pallidum</i> nachweisbar. Eine Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> ist wahrscheinlich.
Ein Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten aus: p47, p17, p15 oder p44.5 Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten plus ein bis drei Spottriplets ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten	Grenzwertig	Hinweis auf eine <i>Treponema pallidum</i> Infektion. Zur Kontrolle nach 2-3 Wochen zweite Probe ansetzen. Bei Verdacht auf eine länger zurückliegende <i>Treponema pallidum</i> Infektion IgG-spezifische Antikörper untersuchen.
Ein singuläres p44.5 Spottriplett ≥ 100 ViraChip®-Einheiten oder ein bis vier Spottriplets ≥ 50 und < 100 ViraChip®-Einheiten oder kein Spottriplett	Negativ	Keine oder nur geringe Mengen an spezifischen Antikörpern gegen <i>Treponema pallidum</i> nachweisbar.

Semiquantitative Beurteilung der VDRL Spottriplets:

Der Treponema + VDRL ViraChip® IgM bietet die Möglichkeit, Antikörperreaktionen gegen VDRL auf der Nitrozellulose semiquantitativ zu bestimmen.

VDRL Reaktivitäten auf dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM werden wie folgt berechnet:

Lot-spezifisch werden aus den ViraChip®-Einheiten der Spottriplets für VDRL-1, VDRL-2 und VDRL-3 ab bestimmten Grenzen Klassifizierungswerte (0,5/1/1,5/2) vergeben, die dann zu einem VDRL-Scoringwert summiert werden.

VDRL-Scoringwerte entsprechen folgenden VDRL Titerstufen:

VDRL-Scoringwert: 0 bis 1	Negativ für VDRL, Ø
DRL-Scoringwert: 1,5 bis 2,5	VDRL Titer 1:1, Fraglich, Ø
VDRL-Scoringwert: 3,0 bis 3,5	VDRL Titer 1:2, Positiv, +
VDRL-Scoringwert: 4,0 bis 4,5	VDRL Titer 1:4, Positiv, +
VDRL-Scoringwert: 5,0	VDRL Titer 1:8 – 1:16, Positiv, +
VDRL-Scoringwert: 5,5	VDRL Titer 1:32 – 1:64, Positiv, +
VDRL-Scoringwert: >5,5	VDRL Titer >= 1:128, Positiv, +

Anmerkung: VDRL 1:1 Titer sind fraglich und werden in den Leistungsdaten des Treponema + VDRL ViraChip® IgM und in den Hinweisen zu einer möglichen labordiagnostischen Bewertung als negativ bzw. Ø bewertet, da sie die Grenze zum grenzwertigen bzw. positiven Befund nicht erreichen. Sie repräsentieren Signal-gebende, aber diagnostisch fragliche Fälle.

Biologisch falsch-positive Reaktivitäten des nicht-treponemalen Antigens VDRL sind in der Literatur beschrieben. Typischerweise treten diese in Form von niedrigen VDRL-Titern auf ohne Assoziation zu einer treponemalen Reaktivität.

Ergebnisse der Treponema + VDRL ViraChip® IgG und IgM Teste und Hinweise zu einer möglichen labordiagnostischen Bewertung

Ergebnis Treponema-spezifischer IgM Befund	Ergebnis Treponema-spezifischer IgG Befund	Ergebnis VDRL IgM Befund	Ergebnis VDRL IgG Befund	Beurteilung
∅	∅	∅	∅	Kein Hinweis auf eine Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> . Bei klinischem Verdacht kurzfristige Kontrolluntersuchung empfohlen und differentialdiagnostisch Ulcus molle und Herpes genitalis abklären.
∅	∅	+	∅	Lipoidantikörper im VDRL Test deuten auf eine aktive Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> hin. Isoliert auftretende Lipoidantikörper können auch unspezifisch bei anderen Infektionserkrankungen, Autoimmunerkrankungen, oder bei Schwangeren auftreten.
∅	∅	∅	+	
∅	∅	+	+	
+	∅	∅	∅	Hinweis auf eine frühe Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> .
+	∅	+	∅	Hinweis auf eine frühe Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> . Zusätzlich deuten Lipoidantikörper auf eine aktive Infektion hin.
+	∅	∅	+	
+	∅	+	+	
+	+	∅	∅	Hinweis auf eine Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> . Je nach Klinik kann es sich auch um eine noch aktive sekundäre Syphilis handeln. Bei einer noch aktiven Infektion muss der Aktivitätsmarker VDRL nicht immer vorhanden sein. Bei Verdacht auf connatale Syphilis sprechen Treponema-spezifische IgM Antikörper und VDRL IgM Antikörper für eine Infektion des Kindes. Die IgG Antikörper können von der Mutter übertragen worden sein.
+	+	+	∅	
+	+	∅	+	
+	+	+	+	
∅	+	∅	∅	Hinweis auf eine länger zurückliegende <i>Treponema pallidum</i> Infektion oder auf eine Serumnarbe. IgG Antikörper können jahrelang persistieren.
∅	+	+	∅	Hinweis auf eine Infektion mit <i>Treponema pallidum</i> . Zusätzlich deuten Lipoidantikörper auf eine noch aktive Infektion hin.
∅	+	∅	+	
∅	+	+	+	

Legende: ∅ = negativ / + = positiv

Unter Berücksichtigung der Hinweise von Müller und Hagedorn (7): Schwach positive oder zweifelhafte Ergebnisse in den genannten Tests bedürfen grundsätzlich der weiteren Abklärung.

Für eine abschließende Beurteilung sollten immer die Treponema + VDRL ViraChip® IgG und IgM Teste gemeinsam beurteilt werden.

Diagnostische Bedeutung von *Treponema pallidum*- und VDRL- Antikörpern

1. Treponema spezifische IgG, IgM Antikörper. Nach ca. 2-3 Wochen nach der Syphilis Primärinfektion, werden zunächst IgM Antikörper gebildet (1,2). Nach sanierender Behandlung einer Syphilis im Primärstadium sinkt der IgM Antikörpertiter innerhalb von 6 Monaten unter die Nachweisgrenze. Nach einer sanierenden Behandlung im Sekundär- bzw. Tertiärstadium sind IgM Antikörper bis zu 24 Monate nachweisbar (2). Wenn keine oder nur eine unzureichende Behandlung durchgeführt wurde, können IgM Antikörper jahrelang persistieren, die Infektion kann hierbei in ein chronisch latentes Stadium übergehen (1,2). Bei chronischem Infektionsverlauf fehlen bei einigen unbehandelten Patienten (ca. 2%) Treponemen-spezifische IgM Antikörper, während hohe IgG Antikörper vorhanden sind. Man nimmt an, dass bei diesen chronischen Infektionen die IgM Antikörper-Synthese durch den hohen IgG Antikörpertiter *in vivo* blockiert wird (2). Sofern eine Erstinfektion rechtzeitig und sanierend behandelt wurde und auch immunologisch, d.h. ohne IgG Antikörpernarbe im Serum ausgeheilt ist, besteht im Ablauf der Antikörpersynthese zwischen Erst- und Zweitinfektion kein Unterschied (1).

Wurde jedoch nach Erstinfektion eine IgG Serumnarbe hinterlassen, kann man bei einer Zweitinfektion steil ansteigende IgG Titer beobachten, die auf einen Booster-Effekt zurückzuführen sind.

Gleichzeitig kann eine Hemmung der Produktion von IgM Antikörpern auftreten. Erregerspezifisches IgM wird somit erst zeitlich verzögert synthetisiert und ist häufig nur mit sehr niedrigen Titern nachweisbar. Zweit- und Mehrfachinfektionen sind deshalb oft nur am Titeranstieg von IgG Antikörpern und nicht am Auftreten von IgM Antikörpern zu erkennen.

2. VDRL Antikörper: Als einzelner Test ist die Sensitivität des VDRL Tests in der Frühphase der Syphilis gering und erst im Sekundärstadium bei allen Patienten reaktiv. Außerdem gibt es einen hohen Anteil unspezifischer Ergebnisse. Erst durch die Kombination mit den Treponema-spezifischen Antigenen wie auf dem Treponema+VDRL ViraChip IgG bzw. IgM kann die VDRL Reaktion für den Verlauf der Antikörperbildung und als Therapiekontrolle richtig beurteilt werden (6, 7).

Die Bedeutung des VDRL Tests liegt in der Therapiekontrolle. Ein drei- bis vierfacher Titeranstieg bei einem Verlaufsserum spricht für eine Infektion, eine Reinfektion oder während der Therapie für eine erfolglose Behandlung. Ein drei- bis vierfacher Titerabfall beim Verlaufsserum während der Behandlung spricht für eine erfolgreiche Therapie (8).

3. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (6).

Leistungsdaten

Spezifität

Zur Bestimmung der diagnostischen Spezifität wurden Seren von negativen Kohorten (Gesunde Blutspender / Schwangere Frauen) mittels des Treponema + VDRL ViraChip® IgM analysiert.

Kollektiv	Treponema + VDRL ViraChip® IgM – Treponema Befund negativ, % (n)	Treponema + VDRL ViraChip® IgM – VDRL Befund negativ / fraglich, % (n)
Blutspender (n=138)	97,8% (135)	97,8% (135)
Blutspender (Studie) (n=63)	88,9% (56)	98,4% (62)
Schwanger (DE, n=48)	100% (48)	100% (48)
Schwanger (US, n=44)	97,9% (46)	100% (47)
Schwanger (DE, Studie, n=102)	91,2% (93)	99,0% (101)
Gesamt (n=402)	95,0% (378)*	98,7% (393)*

Spezifität: Die Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Spezifität ist angegeben.

Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden Proben von bestätigten Syphilis-Fällen mit dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM analysiert.

Kollektiv	Treponema + VDRL ViraChip® IgM - Treponema Befund Grenzwertig / Positiv, % (n)
Primärinfektionen (n=57)	94,7% (54)
Sekundärinfektionen (n=54)	98,1% (53)
Serokonversionsproben (n=16)	81,3% (13)
Syphilis-pos. Mütter (n=10)	60,0% (6)
Gesamt (n=137)	92,0% (126)*

Sensitivität: Die Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Sensitivität betreffend den Treponema-Befund ist angegeben.

Kollektiv	Treponema + VDRL ViraChip® IgM - VDRL Befund Positiv*, % (n)
Primärinfektionen, RPR-pos. (n=45)	100% (45)
Sekundärinfektionen, RPR-pos. (n=45)	95,6% (43)
Serokonversionsproben, RPR-pos. (n=10)	100% (10)
Syphilis-pos. Mütter, RPR-pos. (n=6)	100% (6)
Gesamt (n=106)	98,1% (104)*

Sensitivität: Die Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Sensitivität betreffend den VDRL-Befund ist angegeben.

* VDRL Titer ≥ 1:2

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit Treponema und VDRL-Antigenen ist beschrieben bei Proben von Infektionen wie Leptospirose und Borreliose und ebenso für Autoimmunerkrankungen durch Auslösen einer polyklonalen B-Zell-Aktivierung und unspezifischen Immunantwort. Aufgrunddessen müssen die Treponema und VDRL IgM Ergebnisse in der Zusammenschau mit Symptomen, Patientenhistorie, anderen klinischen Befunden und Testergebnissen sowie der Testung von Nachfolgeproben interpretiert werden, um Fehldiagnosen zu vermeiden. Proben, die Antikörper gegen andere Infektionsparameter oder Autoimmunantikörper haben bzw. potentiell kreuzreaktiv sind gegen das jeweilige Pathogen oder aufgrund von Antigenhomologien oder ähnlicher Symptomatik oder differentialdiagnostisch relevant sind, wurden mit dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM getestet.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM - Treponema Befund

Proben	negativ	grenzwertig	positiv	Positivität (grenzwertig/positiv)
Autoimmun, ANA positiv	4	0	0	0% (0/4)
<i>Borrelia hermsii</i>	4	0	0	0% (0/4)
<i>Borrelia sp.</i>	9	0	1	10% (1/10)
Zöliakie	5	0	0	0% (0/5)
<i>Chlamydia sp.</i>	1	1	0	50% (1/2)

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 8 -

CMV	2	1	0	33% (1/3)
EBV	4	0	0	0% (0/4)
<i>Helicobacter pylori</i>	5	0	0	0% (0/5)
HSV	5	0	0	0% (0/5)
Influenza A	4	0	1	20% (1/5)
<i>Leptospira interrogans</i>	4	0	0	0% (0/4)
Parvovirus B19	4	0	1	20% (1/5)
Rubella	5	0	0	0% (0/5)
<i>Toxoplasma gondii</i>	1	1	1	67% (2/3)
VZV	5	0	0	0% (0/5)
Gesamt	62	3	4	10,1% (7/69)

Kreuzreaktivität. Die Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Kreuzreaktivität betreffend den Treponema-Befund ist angegeben.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM - VDRL Befund

Proben	negativ	1:1*	Positivität*
Autoimmun, ANA positiv	4	0	0% (0/4)
<i>Borrelia hermsii</i>	4	0	0% (0/4)
<i>Borrelia sp.</i>	10	0	0% (0/10)
Zöliakie	5	0	0% (0/5)
<i>Chlamydia so.</i>	2	0	0% (0/2)
CMV	3	0	0% (0/3)
EBV	4	0	0% (0/4)
<i>Helicobacter pylori</i>	5	0	0% (0/5)
HSV	4	1	0% (0/5)
Influenza A	5	0	0% (0/5)
<i>Leptospira interrogans</i>	3	1	0% (0/4)
Parvovirus B19	5	0	0% (0/5)
Rubella	5	0	0% (0/5)
<i>Toxoplasma gondii</i>	2	1	0% (0/3)
VZV	4	1	0% (0/5)
Gesamt	65	4	0% (0/69)

Kreuzreaktivität. Die Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Kreuzreaktivität betreffend den VDRL-Befund ist angegeben.

Von insgesamt 69 Proben mit anderen Infektionen sind 10,1% / 0% (Treponema / VDRL Befund) positive im Treponema + VDRL ViraChip® IgM. In Deutschland ist die Seroprävalenz für Syphilis in der Allgemeinbevölkerung gering (~0,2-0,3%), in besonderen Risikogruppen (z.B. MSM, HIV-Infizierte) kann diese deutlich höher sein (>10%), ebenfalls in einigen anderen Ländern.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 9 -

Probenmatrix

Proben aus verschiedenen Matrices / Antikoagulanzen (Serum, Plasma Natriumcitrat, Plasma Lithiumheparin, Plasma K2 EDTA) desselben Patienten wurden mit dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM getestet. Die Proben wurden mit einer Treponema IgM-positiven Referenzprobe gespiked, so dass die Endkonzentration der Probenverdünnung final 1:76 war. Alle getesteten Proben der verschiedenen Matrices / Antikoagulanzen (Serum, Plasma Natriumcitrat, Plasma Lithiumheparin, Plasma K2 EDTA) zeigten denselben Positivbefund wie die Treponema IgM-positiven Referenzprobe (100% Übereinstimmung).

Interferenz

Proben mit verschiedenen Interferenzen (Rheumafaktor (RF), hämolytisch, ikterisch, lipämisch) wurden auf dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM getestet. Die Proben wurden mit einer Treponema IgM-positiven Referenzprobe gespiked, so dass die Endkonzentration der Probenverdünnung der Standard 1:76-Konzentration entsprach. Alle getesteten Interferenzproben zeigten denselben Positivbefund wie die Treponema IgM-positiven Referenzprobe (100% Übereinstimmung). Siehe Einschränkung des Verfahrens.

Messbereich

Der WHO Standard (WHO International Standard 1st IS for human syphilitic plasma IgG and IgM, NIBSC code: 05/132) wurde in verschiedenen Verdünnungsstufen auf dem Treponema + VDRL ViraChip® IgM getestet.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM									
IU/ml	VDRL-1	VDRL-2	VDRL-3	p47	p44,5	p17	p15	Befund Trep.	Befund VDRL
3 IU/ml	194	166	104	156	0	115	0	pos	+
1,5 IU/ml	147	114	0	119	0	97	0	pos	+
0,75 IU/ml	132	101	0	102	0	85	18	pos	+
0,375 IU/ml	104	86	0	98	0	78	0	neg	Ø*
0,188 IU/ml	0	0	0	0	0	0	0	neg	Ø
0,094 IU/ml	0	0	0	0	0	0	0	neg	Ø
0,047 IU/ml	0	0	0	0	0	0	0	neg	Ø
0,023 IU/ml	0	0	0	0	0	0	0	neg	Ø

Messbereich. Der Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM Messbereich ist angegeben.

*VDRL Titer 1:1

Der WHO Standard reagiert im Treponema + VDRL ViraChip® IgM Treponema-spezifisch positiv bis zu einer Konzentration von 0,75IU/ml.

Der WHO Standard reagiert im Treponema + VDRL ViraChip® IgM mit VDRL bis zu einer Konzentration von 0,75IU/ml.

Der WHO-Standard 05/132 enthält Treponema pallidum-spezifische IgG- und IgM-Antikörper und ist sowohl in nicht-treponemalen (RPR, VDRL) als auch in treponemalen Testen (TPPA, EIA, FTA-Abs) reaktiv. Die relative Potenz in RPR/VDRL-Testen beträgt 3,14 IU/ml (geometrisches Mittel), mit einer entsprechenden Endpunkt-Verdünnung von 1:7,9 (9).

Die VDRL-Endpunktverdünnung kann in monospezifischen Testsystemen, welche entweder nur IgG- oder nur IgM-Antikörper erfassen, geringer ausfallen als in polyvalenten Testsystemen, die mehrere Immunglobulinklassen gleichzeitig nachweisen.

Der Vergleich von Treponema + VDRL ViraChip® IgM (VDRL-Endpunktverdünnung 1:8) und Treponema + VDRL ViraChip® IgG (VDRL-Endpunktverdünnung 1:1) deutet darauf hin, dass die Reaktivität des Präparates 05/132 überwiegend durch IgM-Antikörper vermittelt wird.

Die Bestimmung des Messbereichs mittels einer Verdünnungsreihe eines Referenzserums bzw. WHO-Standards dient ausschließlich der analytischen Leistungsbewertung.

Da das Testsystem Treponema + VDRL ViraChip® auf eine feste Probenverdünnung ausgelegt ist, sind zusätzliche Probenverdünnungen außerhalb der regulären Anwendung nicht Bestandteil der klinischen Validierung. Die Ergebnisse solcher Verdünnungsreihen sind daher nicht direkt auf die diagnostische Sensitivität im Routineeinsatz übertragbar.

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 10 -

Reproduzierbarkeit

Unter Verwendung einer Produktionslot wurde der Treponema + VDRL ViraChip® IgM an fünf unterschiedlichen Tagen prozessiert.. Die Ergebnisse wurden mittels Klassifizierung verglichen, die Prozentwerte der Reproduzierbarkeit sind dargestellt.

Treponema +VDRL ViraChip® IgM									
ID	VDRL-1	VDRL-2	VDRL-3	p47	p44.5	p17	p15	Befund Trep.	Befund VDRL
2016-G03	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
o.S.	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
TPCMPK	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
TPCPNK	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM1319	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM13620	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2491	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2511	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2555	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2848	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2859	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2861	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2881	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2883	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2888	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2923	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM2939	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM3250	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM3397	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM3401	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM3402	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM3406	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4461-13	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4465	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4470	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(4/5) 80%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4480	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(4/5) 80%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4481	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(4/5) 80%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM4597-088	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
VM7412	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%	(5/5) 100%
Alle Proben	(145/145) 100%	(145/145) 100%	(145/145) 100%	(144/145) 99,3%	(144/145) 99,3%	(144/145) 99,3%	(145/145) 100%	(145/145) 100%	(145/145) 100%
Gesamt	(1012/1015) 99,7%							(145/145) 100%	(145/145) 100%

Treponema + VDRL Virachip® IgM Test Kit

Reproduzierbarkeitsstudie. Der Viramed® Treponema + VDRL Virachip® IgM zeigt eine Reproduzierbarkeit von 100% / 100% (Treponema- / VDRL-Befund).

Präzision / Wiederholgenauigkeit

Der Treponema + VDRL Virachip® IgM wurde mit denselben Proben in Triplikaten pro Lauf an einem Tag von einem Operator prozessiert. Die Ergebnisse wurden mittels Klassifizierung verglichen, die Prozentwerte der Wiederholbarkeit sind dargestellt.

Treponema +VDRL Virachip® IgM									
ID	VDRL-1	VDRL-2	VDRL-3	p47	p44.5	p17	p15	Befund Trep.	Befund VDRL
2016-G03	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
o.S.	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
TPCMPK	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
TPCPNK	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM1319	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM13620	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2491	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2511	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2555	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2848	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2859	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2861	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2881	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2883	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2888	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2923	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM2939	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM3250	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM3397	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM3401	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM3402	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM3406	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4461-13	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4465	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4470	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4480	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4481	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(2/3) 67%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM4597-088	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
VM7412	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%	(3/3) 100%
Alle Proben	(87/87) 100%	(87/87) 100%	(87/87) 100%	(86/87) 98,9%	(87/87) 100%	(87/87) 100%	(87/87) 100%	(87/87) 100%	(87/87) 100%

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 12 -

Gesamt	(608/609) 99,8%	(87/87) 100%	(87/87) 100%
---------------	-----------------	-----------------	-----------------

Präzisionsstudie. Der Viramed® Treponema + VDRL ViraChip® IgM zeigt eine Wiederholgenauigkeit von 100% / 100% (Treponema- / VDRL-Befund).

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

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. ViraChip® Microarrays: Verschlossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

2. Waschpuffer: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 14T.

3. Probenpuffer: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 10T.

4. Konjugatlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 10T.

5. Chromogen/Substratlösung: Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum, bei Anbruch 24Mon. Vor Lichteinfall schützen!

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. Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Labor-

richtlinien 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.

4. 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.

5. Der Eintritt von Staub und anderen Verschmutzungen in die Kavitäten der MTP ist zu vermeiden, da daraus ungültige Ergebnisse resultieren können.

6. Alle im Zusammenhang mit dem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und / oder der Patient niedergelassen ist, zu melden.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

1. Der **Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit** ist mit den Probenmatrices humanes Serum und Plasma als Probenmaterial durchzuführen.

2. Die Probengewinnung und Lagerung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards, Methoden und Bedingungen aus Vollblut erfolgen. Der Probentransport ist bei Raumtemperatur möglich (5; 10; 11; 12).

3. In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden.

4. 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.

5. 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 (4).

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, die u.a. aufgrund von HIV/AIDS oder Chemotherapie resultiert, gilt eine eingeschränkte Beurteilbarkeit.

Die Treponema + VDRL Antikörper-Testung kann möglicherweise nicht dem vollständigen aktuellen Infektionsstatus entsprechen (4).

5. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (4).

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

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 13 -

Ansätzen die Testsensitivität und -spezifität nicht gewährleistet sind.

9. Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch, lipämisch oder Rheumafaktor-positiv sind, können zu ungültigen Ergebnissen führen.

10. Proben dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein

11. Kreuzreaktionen mit Treponema / VDRL Antigenen können nicht ausgeschlossen werden, diese wurden für Infektionen wie Leptospirose und Borreliose als auch für Autoimmunerkrankungen beschrieben. Betreffend die Treponema Kreuzreaktivität wurden falsch-positive Befunde festgestellt bei Proben von folgenden Infektionen: Toxoplasma / Parvovirus B19 / Influenza A / CMV / Chlamydia / Borrelia.

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. MÜLLER, F: Lab Med, 1983
2. MÜLLER, F: MTA, 1986
3. NORRIS, SJ: Polypeptides of Treponema pallidum: progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles, Microbiol, 1993
4. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med Verlagsgesellschaft Marburg, 2012
5. TUCK, MK et al.: Standard Operating Procedures for Serum and Plasma Collection, J Proteome Res, 2009
6. THOMAS, L: Labor und Diagnose, Med. Verlagsgesellschaft Marburg, 2008
7. HAGEDORN, H.J.: , Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik. Syphilis, Urban&Fischer, München, Jena, MIQ 16-2001, 2001
8. BURKHARDT, F: Mikrobiologische Diagnostik, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (2009), 2009
9. RIGSBY et al.: Evaluation of two human plasma pools as candidate international standard preparations for syphilitic antibodies, 2009
10. Richtlinie 2008/68/EG: Über die Beförderung gefährlicher Güter im Binnenland, akt. Vers.
11. RKI: Präanalytikhandbücher, akt. Vers.
12. AWMF S2k-Leitlinie 093/001: Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, 2021

Treponema + VDRL ViraChip® IgM Test Kit

- 14 -

Hersteller











Viramed® Biotech AG
 Behringstr.11
 82152 Planegg
 Deutschland

Sonstige Angaben

Überarbeitungsgrund Neuerstellung für IVDR

IVDR (Artikel 29) Kurzbericht über Sicherheit und Leistung ist hier zu finden: EUDAMED - öffentliche Datenbank - Search for UDI-DI and device data including SS(C)P.

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