

# Helicobacter ViraChip® IgA Test Kit 2.0

## Gebrauchsanweisung



Chip-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgA** Antikörpern gegen spezifische **Helicobacter pylori** Antigene in humanem Serum.

Der **Helicobacter ViraChip® IgA Test Kit 2.0** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Microarray-Format, bei dem folgende aufgereinigte Helicobacter-spezifische Antigene verwendet werden: **CagA, VacA, UreA, p24** und **p17**.

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

## Testprinzip

Am Boden jeder Kavität einer 96 well Standard-Mikrotiterplatte (MTP) befindet sich eine Nitrozellulose-Membran auf der Antigene als Analytspots fixiert sind (Microarray). Während der Seruminkubation binden Helicobacter-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 / Substratlösung 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 Helicobacter-spezifischen Antigene **CagA, VacA, UreA, p24** und **p17**.

Zur eindeutigen Kennzeichnung sind die Kavitäten farblich kodiert: Dazu ist der Helicobacter ViraChip® IgA durch einen **beigen Halbkreis** auf dem Kavitätenrand markiert.

Best.-Nr.:	<b>V-HPCAOK</b>
Packungsgröße:	<b>MTP à 96 einzelbrechbaren Kavitäten</b>
Probenmaterial:	<b>10 µl Serum</b>
Testdauer:	<b>ca. 130 Minuten</b>

## Kitinhalt

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

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

50 ml	<b>ViraChip® Sample Buffer</b>	(Best.-Nr.: V-UVCUPP)
	Probenpuffer für ViraChip® Teste, mit Milchpulver, Detergenzien und Salzen zum Verhindern unspezifischer Bindungen, gebrauchsfertig	

## Optional erhältlich

1 MTP-Riegel à 8 Kavitäten	<b>Helicobacter ViraChip® IgA Antigen Coated Wells (8)</b>	(Best.-Nr.: V-HPCART)
330 µl	Einzelbrechbare Kavitäten mit ViraChip® Microarrays, gebrauchsfertig <b>Helicobacter ViraChip® IgA Positive Control</b>	(Best.-Nr.: V-HPCAPK)
330 µl	IgA positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig <b>Helicobacter ViraChip® IgG,A,M Negative Control</b>	(Best.-Nr.: V-HPCPNK)
	IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	

## Zusätzlich geforderte Ausrüstung

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

## Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

**Alle Reagenzien und die verpackte Mikrotiterplatte vor Gebrauch auf Raumtemperatur (RT: 20-23°C) bringen. Alle Reagenzien vor Gebrauch gut durchmischen.**

**Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** **Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser (H<sub>2</sub>O) verdünnen: 100 ml Waschpuffer-Konzentrat + 900 ml H<sub>2</sub>O

**Probenpuffer:** Gebrauchsfertig

**Konjugatlösung:** Gebrauchsfertig

**Chromogen / Substratlösung:** Gebrauchsfertig

## Helicobacter ViraChip® IgA Test Kit 2.0

- 2 -

- MTP-Kavitäten:** Die Mikrotiterplatte (MTP) vorsichtig aus der Verpackung entnehmen und die benötigte Anzahl an Kavitäten in einen leeren Mikrotiterplattenrahmen stecken (Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes, Punkt 3). Nach Entnahme aus der Verpackung Kavitäten sofort verwenden. Nicht benötigte Kavitäten sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.
- Patientenproben:** Die Patientenproben werden in einer **1:76** Verdünnung eingesetzt, z.B. **10 µl Patientenprobe + 750 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Probe werden bei der Prozessierung 100 µl benötigt.
- Kontrollen:** Bei Bedarf wird das positive und das negative Kontrollserum in einer **1:16** Verdünnung eingesetzt, z.B.: **10 µl Kontrollserum + 150 µl Probenpuffer**. Von der verdünnten Kontrolle werden bei der Prozessierung 100 µl eingesetzt.

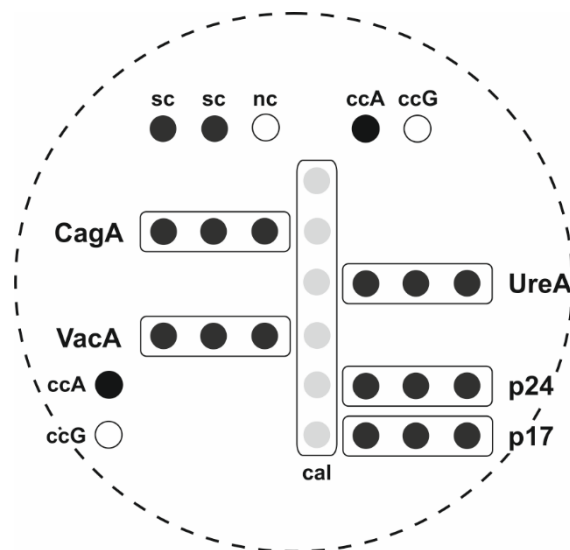
**Aufbau des Helicobacter ViraChip® IgA Microarrays**
**Antigene:**

Jedes Helicobacter-spezifische Antigen, **CagA**, **VacA**, **UreA**, **p24** und **p17**, ist drei Mal in identischer Konzentration als Spottriplett aufgetragen. Jedes Spottriplett entspricht einer Bande im Western Blot / Immunoblot.

**Kontrollen:**

Jede ViraChip® Kavität enthält folgende integrierten Kontrollen:

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



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

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

Nomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
CagA	Hochspezifisch <b>Cytotoxin-associated-gene A</b>	Hochspezifisch für H. pylori Stämme Typ I (10); gilt als Ulcusmarker, Vorkommen bei 80-100% aller Patienten mit Magen- oder Duodenal-Ulcera, seltener bei Patienten mit Gastritis ohne Ulcus (4,2,5).
VacA	Hochspezifisch <b>Vacuolating-Cytotoxin A</b>	Hochspezifisch für H. pylori Stämme Typ I (3); gilt wie CagA als Ulcusmarker und wird häufig zusammen mit CagA exprimiert (2). Es sind mehrere Varianten dieses Proteins beschrieben (3).
UreA	Spezifisch <b>Urease-Untereinheit A</b>	UreA zeigt eine geringe Ähnlichkeit mit Urease-Untereinheit-A anderer Organismen, spezifisch für H. pylori (6).
p24	Hochspezifisch	Protein mit einem Molekulargewicht von 24 kD.
p17	Hochspezifisch	Protein mit einem Molekulargewicht von 17 kD.

## 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 der Inkubationsschritte vollständig mit Flüssigkeit bedeckt sein.

#### 3.6 3 x waschen

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

Während der Inkubations- und Waschschrte einen Orbitalschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 750 rpm, oder einen Linearschüttler, einstellbar auf eine Frequenz von ca. 20 Hz, verwenden.

#### 3.7 1 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- 1 Minute bei RT inkubieren.
- Flüssigkeit absaugen.

#### 3.8 Substratinkubation

- Je Kavität 100 µl Chromogen/Substratlösung zugeben.
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
- Stoppen: Flüssigkeit absaugen.

#### 3.9 3 x waschen

- Je Kavität 300 µl destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben.
- Keine Zwischeninkubation.
- Flüssigkeit absaugen.

#### 3.10 Kavitäten trocknen

20 Minuten bei maximal 60% Luftfeuchtigkeit unter kontinuierlichem Luftstrom trocknen lassen.

Bei höherer Luftfeuchtigkeit kann sich die Trockenzeit verlängern. Alternativ 12 Stunden lichtgeschützt bei RT trocknen lassen.

### 4. Scannen

ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

Messungen der ViraChip® Microarrays sind innerhalb von 24 Stunden nach Prozessierung durchzuführen (Mikrotiterplatte lichtgeschützt aufbewahren). Die genaue Durchführung bitte dem Geräte-Handbuch entnehmen.

## 5. Analysieren

### 5.1 Zuordnung der Antigen-Spottriplets und der Kontrollspots überprüfen (Technisch validieren)

Jeder Spot wird aufgrund seiner Position von der ViraChip® Software automatisch dem entsprechenden Antigen-Spottriolett bzw. dem entsprechendem Kontrollspot zugeordnet.

Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster entsprechend Abb. 1 überprüft werden. Zuordnungen, die nicht dem dargestellten Muster entsprechen im Feld „QC“ auf „nicht gültig“ setzen. Die entsprechende Probe muss wiederholt werden.

### 5.2 Gültigkeitsprüfung

Die Gültigkeitsprüfung wird von der ViraChip® Software automatisch durchgeführt.

Ein ViraChip® Microarray ist gültig, wenn folgende Kontrollspots die in der ViraChip® Software hinterlegten Kriterien erfüllen:

- **Serumkontrollen** (sc) über Grenzwert
- **Konjugatkontrollen IgA** (ccA) über Grenzwert  
Die Konjugatkontrollen IgA müssen stärker reagieren als die Kontrollen der anderen Konjugatklassen.
- **Kalibratorkontrollen** (cal) über Grenzwert
- **Negativkontrolle** (nc) unter Grenzwert

Falls eines der genannten Kriterien nicht erfüllt ist, wird der ViraChip® Microarray als „nicht gültig“ klassifiziert. Nicht gültige ViraChip® Microarrays dürfen nicht ausgewertet werden und müssen wiederholt werden.

### 5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays

Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Die ViraChip® Einheiten jedes Spottriplets werden unter Berücksichtigung der chargen-spezifischen Faktoren relativ zu den Kalibratorkontrollen durch die ViraChip® Software berechnet.

#### Auswertekriterien

ViraChip®-Einheiten der Spottriplets	Ergebnis	Beurteilung
Mindestens <b>ein</b> Spottriolett $\geq 100$ ViraChip®-Einheiten aus: CagA, VacA	<b>Positiv</b> für Typ I	Spezifische Antikörper gegen <b>Helicobacter pylori Typ I</b> nachweisbar. Eine Infektion mit einem hoch pathogenen Helicobacter-Stamm ist wahrscheinlich.
Mindestens <b>zwei</b> Spottriolets $\geq 100$ ViraChip®-Einheiten aus: UreA, p24, p17	<b>Positiv</b> für Typ II	Spezifische Antikörper gegen <b>Helicobacter pylori Typ II</b> nachweisbar. Eine Infektion mit einem gering pathogenen Helicobacter-Stamm ist wahrscheinlich.
<b>Ein</b> Spottriolett $\geq 100$ ViraChip®-Einheiten aus: p24, p17	<b>Grenzwertig</b>	Spezifische Antikörper gegen <b>Helicobacter pylori</b> nachweisbar. Verdacht auf eine Helicobacter pylori Infektion. Zur Kontrolle nach 3 bis 4 Wochen zweite Probe ansetzen und auf IgG- und IgA-spezifische Antikörper untersuchen.
<b>Kein</b> Spottriolett $\geq 100$ ViraChip®-Einheiten oder ein singuläres <b>UreA</b> Spottriolett $\geq 100$ ViraChip®-Einheiten	<b>Negativ</b>	Keine spezifischen Antikörper gegen Helicobacter pylori nachweisbar.

Wenn Spottriolets sowohl für Typ I als auch für Typ II vorhanden sind, wird das Ergebnis als positiv für Typ I gewertet.

### Diagnostische Bedeutung von Helicobacter Antikörpern

1. Für *Helicobacter pylori* sind hoch pathogene (**Typ I-Stämme**) und gering pathogene Stämme (**Typ II-Stämme**) beschrieben (10). Hoch pathogene Stämme wurden von der WHO als Kanzerogene der Klasse I eingestuft. Die hoch und gering pathogenen Stämme unterscheiden sich durch zwei hochspezifische Proteine, die praktisch ausschließlich bei hoch pathogenen Stämmen beobachtet werden: CagA (Cytotoxin associated gene A) und VacA (Vacuolating Cytotoxin A). Bei Infektionen mit Typ II Stämmen kommen Antikörper gegen diese Proteine praktisch nicht vor. Gemeinsam sind den verschiedenen Stämmen die Proteine Urease A sowie fünf nicht näher charakterisierte Proteine mit Molekulargewichten von 90 kD, 30 kD, 26 kD, 24 kD und 17 kD.

2. Ca. 50% der Weltbevölkerung sind Träger des Gram-negativen Bakteriums *Helicobacter pylori*, mit chronischer Gastritis als hauptsächliche Folgeerscheinung. Schwere Infektionen mit peptischen Ulcera oder gastritischen Karzinomen als Symptomatik werden jedoch nur in seltenen Fällen beobachtet. Der Grad der Virulenz der verschiedenen *Helicobacter pylori* Stämme wird über die Expression von diversen Mediatoren reguliert, die ihrerseits starken genetischen Variationen unterliegen können (7). *Helicobacter pylori* kann einer Opsonierung aktiv ausweichen, eine

Immunsystem-gesteuerte Phagozytose kann deutlich retardiert werden, resultierend in dauerhafter bakterieller Persistenz (1).

3. **IgG Antikörper** werden einige Wochen bis Monate nach Infektion erstmals gebildet und sind im Frühstadium einer Infektion oft noch nicht nachweisbar. Bei Verdacht auf Infektion/Kolonisation sollte eine IgG- und eine IgA-Bestimmung durchgeführt werden und zu einem späteren Zeitpunkt eine zweite Serumprobe untersucht werden. Patienten mit chronischem Krankheitsverlauf sind meist positiv für IgG-Antikörper. Nach Eradikationstherapie sinken die Titer allmählich (8).

4. **IgM Antikörper** treten im Allgemeinen etwa 1-8 Wochen nach Erkrankungsbeginn erstmals auf.

5. **IgA Antikörper** weisen bei manchen Patienten auf einen Entzündungsprozess der Magenschleimhaut hin.

6. Eine frühzeitige Antibiotika-Therapie kann die Bildung von Antikörpern unterdrücken.

7. Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (8).

### Leistungsdaten

#### Sensitivität

	Helicobacter ViraChip® IgA	
	Grenzwertig / Positiv, % (n)	Negativ, % (n)
H. pylori - klinisch positiv, (n= 14)	<b>57%</b> (8)	<b>43%</b> (6)

Mit 14 klinisch positiv definierten H. pylori Serumproben wurde die diagnostische Sensitivität des Helicobacter ViraChip® IgA bestimmt.

	Helicobacter ViraChip® IgA	
	Grenzwertig / Positiv, % (n)	Negativ, % (n)
H. pylori - Referenztest grenzwertig / positiv, (n= 33)	<b>85%</b> (28)	<b>15%</b> (5)*

Mit 33 Serumproben, die im Helicobacter ViraStripe® IgA als Referenztest grenzwertig oder positiv reagierten, wurde die Sensitivität für den Helicobacter ViraChip® IgA bestimmt.

\*) Die 5 Serumproben, die negativ mit dem Helicobacter ViraChip® IgA reagiert haben, reagieren positiv mit dem Helicobacter ViraChip® IgG

#### Spezifität

	Helicobacter ViraChip® IgA	
	Grenzwertig / Positiv, % (n)	Negativ, % (n)
H. pylori - klinisch negativ, (n= 25)	<b>4%</b> (1)	<b>96%</b> (24)

Mit 25 klinisch negativ definierten H. pylori Serumproben wurde die diagnostische Spezifität des Helicobacter ViraChip® IgA bestimmt.

	Helicobacter ViraChip® IgA	
	Grenzwertig / Positiv, % (n)	Negativ, % (n)
H. pylori - Referenztest negativ, (n= 108)	<b>4%</b> (4)	<b>96%</b> (104)

Mit 108 Serumproben, die im Helicobacter ViraStripe® IgA als Referenztest negativ reagierten, wurde die Spezifität für den Helicobacter ViraChip® IgA bestimmt.

### Anforderungen an den Anwender

1. Dieser Test ist nur in einem Fachlabor durchzuführen, das die entsprechende Laborausstattung (z.B. nach GLP) und die ggf. erforderlichen behördlichen Genehmigungen zum Umgang mit den zu testenden Proben besitzt.

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

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

### Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

1. **ViraChip® Microarrays:** Verschluss in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
2. **Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
3. **Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.
4. **Probenpuffer:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
5. **Konjugatlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

### 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.

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.

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 **Helicobacter ViraChip® IgA Test Kit 2.0** ist mit humanem Serum als Probenmaterial durchzuführen.
2. Die Probengewinnung sollte durch medizinisches Fachpersonal nach den geltenden Standards aus Vollblut erfolgen (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. 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 beeinträchtigt werden können.

### Hinweise zu Geräten und Software











1. Bei automatisierter Durchführung müssen für den jeweiligen Prozessortyp von Viramed Biotech AG validierte Arbeitsschritte programmiert und verwendet werden.
2. Bei Verwendung von Prozessorspezifischen Verbrauchsmaterialien sind die entsprechenden Konfigurationen nach Herstellerangaben von Viramed Biotech AG freizugeben.
3. Die von Viramed Biotech AG bereitgestellte Geräte- und Softwarekonfiguration darf nicht verändert werden. Jegliche Änderung kann falsche Ergebnisse verursachen.

4. Es ist ausschließlich gerätespezifische Software zu verwenden. Änderungen an Konfigurationsdateien dürfen nur von Viramed Biotech AG durchgeführt werden.
5. Als Messgeräte sind nur von Viramed Biotech AG zugelassene Systeme zu verwenden.
6. Die Auswertung der ViraChip® Microarrays erfolgt ausschließlich über die ViraChip® Software. Eine manuelle/visuelle Auswertung ist nicht möglich.

### Literatur

1. ALLEN, LH: Phagocytosis and persistence of *Helicobacter pylori*, Cellular Microbiology, 2007
2. COVACCI, A et al.: Molecular characterisation of the 128 kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer, PNAS, 1993
3. COVER, T et al.: Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among *Helicobacter pylori* strains, J Biol Chem, 1994
4. COVER, T et al.: *Helicobacter pylori*: A bacterial cause of gastritis, peptic ulcer disease and gastric cancer, ASM News, 1995
5. COVER, T et al.: Serologic detection of infection with cagA+ *Helicobacter pylori* strains, J Clin Microbiol, 1995
6. MALFERTHEINER, P: *Helicobacter pylori* – Von der Grundlage zur Therapie., Thieme, 1996
7. OLIVARES, D & GISBERT, JP: Factors involved in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection, Rev Esp Enferm, 2006
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. XIANG, Z et al.: Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin, Infect Immun, 1995

### 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