

Aviditätsreagenz für ViraChip® Test Kits

Gebrauchsanweisung

Aviditätsreagenz für ViraChip® Test Kits zur Aviditätsbestimmung von Antikörpern gegen Erreger-spezifische Antigene in humanem Serum.

Testprinzip

Zur Bestimmung der Avidität mit ViraChip® Test Kits wird ein Ansatz mit Denaturierungsschritt (Aviditätsansatz) mit einem Ansatz ohne Denaturierungsschritt (Vergleichsansatz) verglichen. Erreger-spezifische Antikörper binden in beiden Ansätzen während der Seruminkubation an die fixierten Antigene auf dem ViraChip® Test. Die anschließende Inkubation eines der beiden ViraChip® Teste mit einer Harnstoff/H₂O₂-Lösung (Aviditätsreagenz-Lösung für ViraChip® Teste) führt zur Ablösung eventuell vorhandener niedrig avider oder intermediär avider Antikörper von den fixierten Antigenen, während die Bindung hoch avider Antikörper bestehen bleibt. Beim Vergleich der Ansätze deuten reduzierte Intensitäten der Spottriplets im Aviditätsansatz auf niedrig avide bzw. intermediär avide Antikörper hin. Aus dem Verhältnis der Intensitäten des Aviditätsansatzes und des Vergleichsansatzes werden pro Antigen die jeweiligen Aviditätsindizes (AVI) berechnet und entsprechend den Auswertekriterien zu einer gesamten Avidität interpretiert.

Benötigtes Material

Aviditätsreagenz: **ViraChip® / ViraStripe® / ViraBlot Avidity Reagent** (Best. Nr.: V-UVNUAV), Reagenzgefäß mit 4 Harnstoff/H₂O₂-Tabletten, Lagerung bei 15-25°C, Haltbarkeit siehe Etikett

Serum: Pro Patient 2 x **10 µl Serum**

ViraChip® Test Kit: ViraChip® Test Kit des zu untersuchenden Parameters

Kitinhalt, Haltbarkeit, Lagerung, zusätzlich geforderte Ausrüstung sowie das **Vorbereiten** der **Reagenzien, Kontrollen** und **Patientenproben** sind der Gebrauchsanweisung des jeweiligen ViraChip® Test Kits zu entnehmen.

Vorbereiten der Aviditätsreagenz-Lösung

Vier Tabletten Aviditätsreagenz, entsprechend 4g Harnstoff/H₂O₂, **mit 8 ml** Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung (Best.-Nr.: V-UVNUWP) im Reagenzgefäß lösen. Die frisch angesetzte Lösung ist 5-7 Tage bei 2-8°C haltbar.

Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes

Für die Aviditätsbestimmung wird die verdünnte Patientenprobe jeweils in zwei Kavitäten, dem Aviditätsansatz und dem Vergleichsansatz, derselben Charge des jeweiligen ViraChip® Test Kits parallel angesetzt (siehe Tabelle 1).

Entsprechend dem Abschnitt „Vorbereiten und Durchführen des Testlaufes“ der Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit werden wie gewohnt Schritte **1** bis einschließlich **3.3** jeweils für beide Ansätze gleichermaßen durchgeführt.

Anschließend erfolgt im Schritt **3.3a** für beide Ansätze ein Waschschriff.

Darauffolgend wird im Schritt 3.3b beim Aviditätsansatz 3 Minuten mit Aviditätsreagenz-Lösung inkubiert, beim Vergleichsansatz mit Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung.

Anschließend werden die Schritte **3.4** bis **5.3** jeweils für beide Ansätze gleichermaßen wie gewohnt durchgeführt.

Tabelle 1:

Aviditätsansatz	Vergleichsansatz
<p>1. Belegen Testauswahl und Eintrag der Probanden in den Belegungsplan der ViraChip® Software.</p>	<p>1. Belegen Testauswahl und Eintrag der Probanden in den Belegungsplan der ViraChip® Software.</p>
<p>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).</p>	<p>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).</p>
<p>3. Prozessieren Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.</p>	<p>3. Prozessieren Alle Schritte der Prozessierung bei RT durchführen.</p>
<p>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.</p>	<p>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.</p>
<p>3.2 Vorinkubation - Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben. - 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren. - Flüssigkeit absaugen.</p>	<p>3.2 Vorinkubation - Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben. - 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren. - Flüssigkeit absaugen.</p>

Fortsetzung von Tabelle 1

Aviditätsansatz

- 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.

- 3.3a 1 x waschen**
 - Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
 - 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
 - Flüssigkeit absaugen.

- 3.3b Zugabe von Aviditätsreagenz-Lösung:**
 - Je Kavität 300 µl Aviditätsreagenz-Lösung zugeben.
 - exakt 3 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.

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

- 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.

- 4. Scannen**
 ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

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 entsprechenden Kontrollspot zugeordnet. Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster überprüft werden. Zuordnungen, die nicht dem 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.

- 5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays**
 Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Vergleichsansatz

- 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.

- 3.3a 1 x waschen**
 - Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
 - 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren.
 - Flüssigkeit absaugen.

- 3.3b Zugabe von Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:**
 - Je Kavität 300 µl Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben.
 - exakt 3 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.

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

- 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.

- 4. Scannen**
 ViraChip® Microarrays mit dem ViraChip® Scanner oder dem ViraChip® Reader messen.

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 entsprechenden Kontrollspot zugeordnet. Die automatische Zuordnung muss visuell mit dem Muster 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.

- 5.3 Auswertung der ViraChip® Microarrays**
 Die Bewertung der Patientenproben wird von der ViraChip® Software automatisch nach den im Folgenden definierten Auswertekriterien durchgeführt:

Auswertung

Die Aviditätsbestimmung erfolgt über die ViraChip® Software für den jeweiligen Parameter. Dabei werden für jedes Antigen die Spottriplett-Intensitäten des Aviditätsansatzes durch die Spottriplett-Intensitäten des Vergleichsansatzes dividiert. Die daraus resultierenden Antigen-spezifischen Aviditätsindizes werden jeweils als AVI in Prozent angegeben.

Entsprechend den Aviditäts-Auswertekriterien für den jeweiligen ViraChip® Test werden auf Grundlage der AVIs die Aviditäten als „niedrig avide“, „intermediär avide“ oder „hoch avide“ als qualitatives Ergebnis bestimmt.

Die Interpretation der Avidität ist als Symptom zu werten. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten durch medizinisches Fachpersonal erfolgen.

Hinweise

1. Serumproben für die Antikörper-Aviditätsbestimmung sollten möglichst frisch sein und nicht mehr als einmal eingefroren und wieder aufgetaut worden sein. Bei älteren Seren und mehrfach eingefrorenen Seren kann der Antikörpergehalt abfallen, so dass keine zuverlässige Aussage mehr möglich ist.
2. Die Gebrauchsanweisungen für die jeweiligen ViraChip® Test Kits beachten.

Anforderungen an den Anwender

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit

Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit

Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Sicherheitsdatenblatt für die ViraChip®, ViraStripe® und ViraBlot Avidity Reagent.

Gewinnung, Handhabung und Lagerung der Patientenprobe

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit







Einschränkungen des Untersuchungsverfahrens

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit

Hinweise zu Geräten und Software

- Siehe Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit
- Siehe Aviditätsbestimmungs-Gebrauchsanweisung für den jeweiligen ViraChip® Test Kit

Symbolerklärungen

	Hersteller		Bestell-Nummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
	Chargen-Nummer		Temperaturbegrenzung (Lagerung)