

→REF KSTILEP402G10 | KSTILEP402GP

Verwendungszweck

Der **PreventID® Leptospira** ist ein immunchromatographischer Schnelltest für den qualitativen Nachweis von Antikörpern (IgM und IgG) gegen *Leptospira interrogans* in humanen Vollblut-, Serum- oder Plasmaproben.

Einleitung

Die Leptospirose tritt weltweit auf und ist ein häufiges leichtes bis schweres Gesundheitsproblem für Mensch und Tier, insbesondere in Gebieten mit einem heißen und feuchten Klima. Die natürlichen Reservoire für die Leptospirose sind Nagetiere sowie eine Vielzahl von domestizierten Säugetieren. Die Infektion des Menschen wird durch *Leptospira interrogans*, das pathogene Mitglied der Gattung *Leptospira* [1, 2], verursacht. Die Infektion wird über den Urin des Wirtstieres übertragen. Nach der Infektion sind Leptospiren im Blut vorhanden, bis sie nach 4 bis 7 Tagen nach der Produktion von anti-*Leptospira-interrogans*-Antikörpern, zunächst der IgM-Klasse, entfernt werden. Die Kultur von Blut, Urin und Liquor ist ein wirksames Mittel, um die Diagnose in der ersten bis zweiten Woche nach der Exposition zu bestätigen. Der serologische Nachweis von Anti-*Leptospira-interrogans*-Antikörpern ist ebenfalls eine gängige Diagnosemethode. Tests sind unter dieser Kategorie verfügbar: 1) Der mikroskopische Agglutinationstest (MAT); 2) ELISA; 3) Indirekte fluoreszierende Antikörperperest (IFATs) [6]. Alle oben genannten Methoden erfordern jedoch eine ausgeklügelte Laborausstattung und gut ausgebildetes medizinisches Fachpersonal.

Testprinzip

Der **PreventID® Leptospira** ist ein qualitativer, membranbasierter Immunoassay zum Nachweis von IgG- und IgM-Antikörpern gegen *Leptospira* in Vollblut, Serum oder Plasma. Die Membran ist mit rekombinantem Maus-Anti-Human-IgG und Maus-Anti-Human-IgM im Testbereich der Kassette vorbeschichtet. Während des Tests reagiert die Vollblut-, Serum- oder Plasmaprobe mit rekombinantem *Leptospira-interrogans*-Antigen-konjugiertem Kolloidgold. Die Mischung wandert chromatographisch durch Kapillarwirkung auf der Membran nach oben, um mit Maus Anti-Human-IgG oder/und Maus Anti-Human-IgM auf der Membran zu reagieren und eine Farbbande zu erzeugen. Das Vorhandensein dieser farbigen Bande zeigt ein positives Ergebnis an, während das Fehlen dieser Bande ein negatives Ergebnis anzeigt. Um als Verfahrenskontrolle zu dienen, erscheint immer eine farbige Bande im Kontrollbereich (C), die anzeigt, dass das richtige Probenvolumen hinzugefügt wurde und eine ausreichende Membrandurchfeuchtung erfolgt ist. Die Testkassette enthält rekombinantes *Leptospira-interrogans*-Antigen-konjugiertes Kolloidgold, Maus-Anti-Human-IgG und Maus-Anti-Human-IgM, das auf der Membran aufgebracht ist.

Materialien

Mitgelieferte Materialien

- Testkassetten (mit Pipetten), einzeln verpackt **TEST**
- Puffer **BUF**
- Testanleitung

Zusätzlich benötigte Materialien: Stoppuhr, Einmalhandschuhe, Blutprobensammelröhrchen, Lanzette und heparinisierte Kapillarröhrchen mit Bulbus für Kapillarblut; Zentrifuge für Serum oder Plasma

Lagerung und Stabilität

Der Test sollte bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank gelagert werden (2–30°C). Die Testkassetten **nicht einfrieren**. Nach Ablauf des Verfallsdatums den Test nicht verwenden. Die Testkassette ist empfindlich gegenüber Luftfeuchtigkeit und hohen Temperaturen. Daher soll der Test vor Hitze geschützt und unmittelbar nach dem Öffnen der Verpackung benutzt werden.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur zur *In-vitro*-Diagnostik verwenden.
2. Während der Arbeit mit den Proben nicht essen, rauchen oder trinken.
3. Während der Arbeit mit den Proben Einmalhandschuhe tragen; danach die Hände gründlich waschen.
4. Spritzer und Aerosolbildung während Probennahme und Testdurchführung vermeiden.
5. Alle verwendeten Materialien und Proben als potentiell infektiös behandeln und den Vorschriften entsprechend entsorgen. Kontaminierte Gegenstände und Oberflächen gründlich reinigen.
6. Den Test nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist, die Versiegelung geöffnet ist oder die Testkassette erkennbare Schäden aufweist. Verfallsdatum beachten.
7. Vor Verwendung des Tests die Testanleitung sorgfältig lesen.
8. Reagenzien mit verschiedenen Chargennummern nicht mischen.
9. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an die Preventis GmbH.

Wichtig: die Lanzette nur für eine Person verwenden, weil sonst ein Infektionsrisiko besteht.

Probennahme und Probenvorbereitung

Der **PreventID® Leptospira** kann mit Vollblut (aus Venenpunktion oder aus der Fingerkuppe), Serum oder Plasma durchgeführt werden.

Vollblutproben aus der Fingerkuppe:

- Waschen Sie die Hand des Patienten mit Seife und warmem Wasser und reinigen Sie sie mit einem Alkoholtupfer. Trocknen lassen.
- Massieren Sie die Hand, ohne die Einstichstelle zu berühren, indem Sie die Hand in Richtung der Fingerspitze des Mittel- oder Ringfingers reiben.
- Punktieren Sie die Haut mit einer sterilen Lanzette. Das erste Blut wegwischen.

- Reiben Sie die Hand sanft vom Handgelenk über die Handfläche bis zum Finger, um einen runden Blutstropfen über der Einstichstelle zu bilden.
- Auftragen der Vollblutprobe aus der Fingerkuppe mit einem **Kapillarröhrchen** in die Testkassette:
 - Berühren Sie mit dem Ende des Kapillarröhrchens das Blut, bis das Röhrchen auf ca. **40 µl** gefüllt ist. Vermeiden Sie Luftblasen.
 - Halten Sie das Kapillarröhrchen am Bulbus und positionieren es über dem Probenauftragsfenster. Drücken Sie den Bulbus sanft zusammen, um das Vollblut in das Probenauftragsfenster der Testkassette aufzutragen.
- Auftragen der Vollblutprobe aus der Fingerkuppe als **hängende Tropfen**:
 - Positionieren Sie den Finger des Patienten so, dass der Blutstropfen direkt in das Probenauftragsfenster fällt.
 - Ein hängender Tropfen Blut fällt in die Mitte des Probenauftragsfensters der Testkassette oder er berührt das Probenauftragsfenster. Vermeiden Sie, dass der Finger selber das Probenauftragsfenster berührt.

Serum- und Plasmaproben:

- Gewinnen Sie Serum oder Plasma so schnell wie möglich aus Blut, um eine Hämolyse zu vermeiden. Es dürfen nur klare, nicht-hämolytierte Proben verwendet werden.

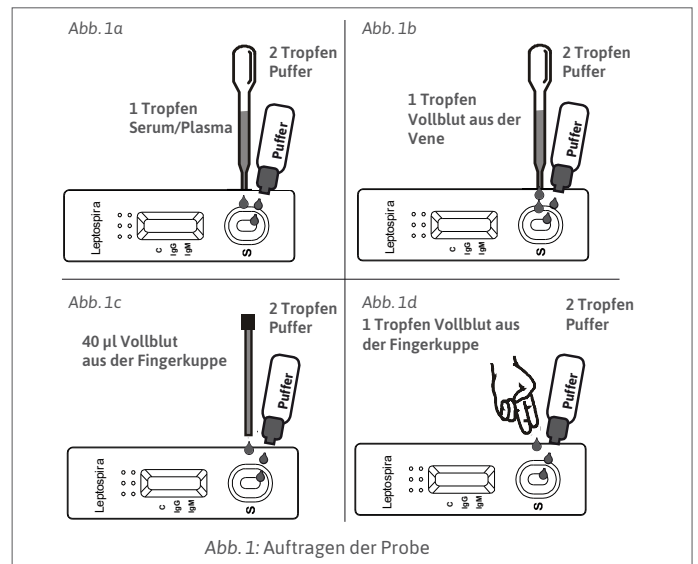
Den Test unmittelbar nach der Probennahme durchführen. Bewahren Sie die Proben nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur auf. Serum- und Plasmaproben können bis zu 3 Tage bei 2–8°C gelagert werden, für die Langzeitlagerung sollten sie unter -20°C gelagert werden. Vollblut, das durch Venenpunktion entnommen wird, sollte bei 2–8°C gelagert werden, wenn der Test innerhalb von 2 Tagen nach der Entnahme durchgeführt werden soll. Vollblutproben nicht einfrieren. Vollblut aus der Fingerkuppe sofort testen. Bringen Sie die Proben vor dem Testen auf Raumtemperatur. Gefrorene Proben müssen vor dem Test vollständig aufgetaut und gut vermischt sein. Die Proben nicht wiederholt einfrieren und auftauen.

Werden die Proben versendet, müssen sie gemäß den lokalen Verordnungen für den Transport von ätiologischem Material verpackt sein.

Testdurchführung

Die Testkassette, die Proben, den Puffer und/oder Kontrollen vor dem Testen auf Raumtemperatur bringen (15–30°C).

1. Entnehmen Sie die Testkassette der Verpackung, legen Sie die Testkassette auf eine glatte trockene Unterlage und verwenden Sie diese sobald wie möglich. Beste Ergebnisse erzielt man, wenn der Test innerhalb einer Stunde durchgeführt wird. Das Probenauftragsfenster befindet sich auf der rechten Seite.
2. **Serum- oder Plasmaproben:** Die Pipette senkrecht halten und **einen Tropfen Serum oder Plasma** (entsprechend ca. 40 µl) in das Probenauftragsfenster tropfen lassen, dann **zwei Tropfen Puffer** hinzugeben (ca. 80 µl) und den Timer starten (**Abb. 1a**). **Vollblutproben aus der Vene:** Die Pipette senkrecht halten und **einen Tropfen Vollblut** (entsprechend ca. 40 µl) in das Probenauftragsfenster tropfen lassen, dann **zwei Tropfen Puffer** hinzugeben (ca. 80 µl) und den Timer starten (**Abb. 1b**). **Vollblut aus der Fingerkuppe:** Mit dem Kapillarröhrchen: das Kapillarröhrchen befüllen und ca. **40 µl des Vollbluts aus der Fingerkuppe** in das Probenauftragsfenster der Testkassette übertragen, dann **zwei Tropfen Puffer** (ca. 80 µl) hinzugeben und den Timer starten (**Abb. 1c**). Hängende Tropfen: **einen hängenden Tropfen Vollblut** direkt aus der Fingerkuppe (ca. 40 µl) in das Probenauftragsfenster tropfen lassen, dann **zwei Tropfen Puffer** hinzugeben (ca. 80 µl) und den Timer starten (**Abb. 1d**).
3. Warten bis (eine) farbige Bande(n) erscheint(en). Das Ergebnis nach **15 Minuten** ablesen. Den Test nach 20 Minuten nicht mehr auswerten.



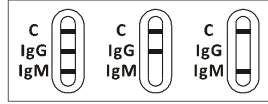
Testinterpretation

IgG Positiv: Es bilden sich zwei Banden. Eine Bande befindet sich in der Kontrollregion (C), eine weitere im IgG-Testbereich.

IgM Positiv: Es bilden sich zwei Banden. Eine Bande befindet sich in der Kontrollregion (C), eine weitere im IgM-Testbereich.

IgG und IgM Positiv: Es bilden sich drei Banden. Eine Bande befindet sich in der Kontrollregion (C), zwei weitere im IgG Testbereich und im IgM-Testbereich.

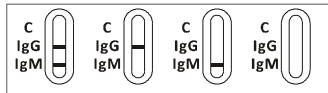
Achtung: Die Farbintensität der Testbande variiert je nach Konzentration der Leptospira-Antikörper in der Probe. Auch eine schwache Farbentwicklung im Bereich der Testbande sollte als positiv bewertet werden.



Negativ: Erscheint nur die Kontrollbande (C) im Ergebnissenfenster, so zeigt dies ein negatives Ergebnis an. Keine Banden im Testbereich von IgG und IgM.



Ungültig: Es bildet sich keine Kontrollbande. Wahrscheinliche Gründe dafür sind ein zu geringes Probenvolumen oder Fehler während des Testlaufs. Überprüfen Sie Ihr Vorgehen und wiederholen Sie den Test mit einer neuen Testkassette. Sollte das Problem weiterhin bestehen, stellen Sie die Verwendung des Tests ein und kontaktieren Sie Preventis.



Achtung: Nach mehr als 20 Minuten den Test nicht mehr auswerten, um nicht-korrekte Ergebnisse zu vermeiden.

Testcharakteristika

Erwartete Werte

Der **PreventID® Leptospira** wurde mit einem führenden kommerziellen Leptospira ELISA-IgG-Test und Leptospira-IgM-Test verglichen. Die Korrelation zwischen diesen beiden Systemen liegt bei über 98 %.

Sensitivität und Spezifität

Insgesamt 230 Proben wurden mit dem **PreventID® Leptospira** und mit einem führenden kommerziellen Leptospira-IgM-ELISA verglichen. Der Vergleich aller Proben ist in folgender Tabelle aufgeführt.

IgM Ergebnisse:	ELISA			Gesamtergebnis
	Ergebnisse	Postiv	Negativ	
PreventID® Leptospira	Positiv	9	3	12
	Negativ	1	217	218
Gesamtergebnis		10	220	230

Relative Sensitivität: 90,0 % (95 % KI*: 55,5 % – 99,7 %)

Relative Spezifität: 98,6 % (95 % KI*: 96,1 % – 99,7 %)

Genauigkeit: 98,3 % (95 % KI*: 94,7 % – 98,9 %) *Konfidenzintervalle

Insgesamt 239 Proben wurden mit dem **PreventID® Leptospira** und mit einem führenden kommerziellen Leptospira-IgG-ELISA verglichen. Der Vergleich aller Proben ist in folgender Tabelle aufgeführt.

IgG Ergebnisse:	ELISA			Gesamtergebnis
	Ergebnisse	Postiv	Negativ	
PreventID® Leptospira	Positiv	15	3	18
	Negativ	1	220	221
Total Result		16	223	239

Relative Sensitivität: 93,8 % (95 % KI*: 69,8 % – 99,8 %)

Relative Spezifität: 98,7 % (95 % KI*: 96,1 % – 99,7 %)

Genauigkeit: 98,3 % (95 % KI*: 95,8 % – 99,5 %) *Konfidenzintervalle

Reproduzierbarkeit

Intra-Assay:

Die Genauigkeit innerhalb des Testlaufs wurde unter Verwendung von 20 Replikaten von 5 Proben bestimmt: eine negative, eine Leptospira IgM schwach-positive, eine Leptospira IgM stark-positive, eine Leptospira IgG schwach-positive und eine Leptospira IgG stark-positive. Ne-gative, Leptospira IgM schwach-positive, Leptospira IgM stark-positive, Leptospira IgG schwach-positive und Leptospira IgG stark-positive Werte wurden zu 100 % korrekt identifiziert.

Inter-Assay:

Die Genauigkeit von verschiedenen Testläufen wurde durch 20 unabhängige Tests mit den identischen Proben durchgeführt: negativ, IgG schwach-positiv, IgG stark-positiv, IgM schwach-positiv, IgM stark-positiv. Drei verschiedene Chargen des **PreventID® Leptospira** wurden über einen Zeitraum von 3 Tagen mit negativen, schwach-IgG- und schwach-IgM-positiven und stark-IgG- und stark-IgM-positiven Proben getestet. Die Proben wurden zu 100 % korrekt identifiziert.

Kreuzreaktivität

Der **PreventID® Leptospira** wurde getestet mit HAMA, RF, HBsAg, HBsAb, HBeAg, HBeAb, HBcAb, Syphilis, HIV, H. pylori, MONO, CMV, Rubella und TOXO positiven Proben. Die Ergebnisse wiesen keine Kreuzreaktivitäten auf.

Interferierende Substanzen

Folgende, potentiell interferierende Substanzen wurden bei der Verwendung des **PreventID® Leptospira** mit positiven und negativen Proben getestet.

Paracetamol: 20 mg/dl	Koffein: 20 mg/dl
Aspirin: 20 mg/dl	Genisinsäure: 20 mg/dl
Ascorbinsäure: 2 g/dl	Albumin: 2 g/dl
Kreatin: 200 mg/dl	Hämoglobin: 1000 mg/dl
Bilirubin: 1 g/dl	Oxalsäure: 60 mg/dl

Keine dieser Substanzen interferiert in den getesteten Konzentrationen mit dem Test.

Qualitätskontrolle

Der Test enthält eine Methodenkontrolle. Die Kontrollbande bei (C) ist die interne Kontrolle für das Verfahren. Sie bestätigt das ausreichende Probenvolumen, die richtige Membranfeuchte und den korrekten Testlauf. Kontrollstandards werden in diesem Test nicht mitgeliefert. Im Sinne der guten Laborpraxis empfiehlt es sich, positive und negative Kontrollen zu testen, um das Testverfahren und die korrekte Testdurchführung zu bestätigen.

Grenzen des Tests

- Das Testdurchführung und die Testinterpretation sind sorgfältig einzuhalten beim Testen auf Vorhandensein von Antikörpern gegen pathogene *Leptospira interrogans* in Serum, Plasma oder Vollblut von einzelnen Probanden. Nichteinhaltung der Vorgaben zur Testdurchführung können zu falschen Ergebnissen führen.
- Der **PreventID® Leptospira** ist ausschließlich für den qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen *Leptospira interrogans* in menschlichem Serum, Plasma oder Vollblut konzipiert. Die Intensität der Testbande korreliert nicht linear mit der Antikörperkonzentration in der Probe.
- Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass es keine nachweisbaren Antikörper gegen *Leptospira interrogans* gibt. Ein negatives Testergebnis schließt jedoch die Möglichkeit einer Exposition gegenüber *Leptospira interrogans* nicht aus.
- Ein negatives Ergebnis kann auftreten, wenn die Menge an *Leptospira*-Antikörpern in der Probe sehr gering ist, also unter der Nachweisgrenze des Tests liegt oder die nachgewiesenen Antikörper waren in dem Krankheitsstadium, als die Probe genommen wurde, nicht vorhanden.
- Ungewöhnlich hohe Titer an heterogenen Antikörpern oder Rheumafaktoren in den Proben können die erwarteten Ergebnisse beeinflussen.
- Die mit diesem Test erzielten Ergebnisse sollten nur in Verbindung mit anderen Diagnoseverfahren und klinischen Befunden interpretiert werden.

Literatur:

- Stallman GND; The International Committee on Systematic Bacteriology: Sub committee on the Taxonomy of Leptospira. Int J Syst Bacteriol 1987; 37:472.
- Levett PN. Leptospirosis. Clin Microbiol Rev 2001;14:296-326
- Faine S, ed. Guidelines for the control of leptospirosis. Geneva: World Health Organization, 1982.
- Cumberland PC, Everard COR, Levett PN. Assessment of the efficacy of the IgM enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. Am J Trop Med Hyg. 1999; 61: 731-734.
- Adler B, Murphy AM, Locarnini SA, Faine S. Detection of specific anti-leptospiral immunoglobulins M and G in human serum by solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay. J Clin Microbiol. 1980; 11: 452-457.
- Appasakij H, Silpapojakul K, Wansit R et al.: Evaluation of the immunofluorescent antibody test for the diagnosis of human leptospirosis. Am J Trop Med Hyg 1995; 52: 340.

Temperaturbegrenzung	Hersteller
In-vitro-Diagnostikum	Chargennummer
Bestellnummer	Verwendbar bis
Zu verwenden mit	Nicht zur Wiederverwendung
Gebrauchsanweisung beachten	Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen
Vor Hitze (Sonneneinstrahlung) schützen	



Stand: 2019-12-04

Vertrieb durch:

Preventis GmbH
 Stubenwald-Allee 8a
 64625 Bensheim, Germany
 Tel.: +49 6251 70711-0
 Fax: +49 6251 70711-299
 info@preventis.com
 www.preventis.com