

# LEPTOSPIRA VIRCLIA® IgM MONOTEST



VCM014



Für die *In-vitro*-Diagnostik

## ZWECKBESTIMMUNG

Indirekter Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) zum Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *Leptospira interrogans* in menschlichem Serum/Plasma. Bei diesem Test handelt es sich um einen automatischen, qualitativen Test zur Diagnosehilfe.

## EINLEITUNG

Leptospirose ist eine zoonotische Krankheit mit epidemischem Potenzial, die durch Bakterien der Gattung *Leptospira* verursacht wird. Die zu dieser Gattung gehörende Bakterien *Leptospira interrogans* ist human- und tierpathogen und enthält zahlreiche Serovare. Auf Menschen wird Leptospirose meistens dann übertragen, wenn sie in direkten Kontakt mit dem Urin infizierter Tiere oder einer mit Urin verunreinigten Umgebung kommen, wo das Bakterium wochen- bis monatelang überleben kann. Viele verschiedene Tierarten, vor allem Säugetiere (einschließlich Nagetiere und Haustiere) können die Ursache einer Humaninfektion sein. Leptospirose kommt weltweit vor, ist jedoch hauptsächlich in Ländern mit feuchtem subtropischen und tropischen Klima vorherrschend. Die Krankheit ist ein Berufsrisiko für viele Menschen, die im Freien oder mit Tieren arbeiten. Leptospirose kann sich in vielen unterschiedlichen Krankheitsbildern und durch zahlreiche Symptome manifestieren. Typischerweise zeigt sich die Krankheit in vier klinischen Kategorien: (i) leichte, grippeähnliche Krankheit; (ii) Weil-Syndrom charakterisiert durch Gelbsucht, Nierenversagen, Blutungen und Myokarditis mit Herzrhythmusstörungen; (iii) Meningitis/Meningoenzephalitis; (iv) Lungenblutungen mit Atemversagen. Aufgrund der unterschiedlichen, unspezifischen klinischen Erscheinungsbilder kann sie mit vielen anderen Infektionskrankheiten verwechselt werden.

Die Krankheit wird üblicherweise im Labor diagnostiziert, wenn Antikörper festgestellt werden (Serodiagnostik), oder über direkte Methoden (Kultur, direkte Immunfluoreszenz, PCR). Eine Serokonversion kann bereits 5–7 Tage nach Ausbruch der Krankheit auftreten; IgM-Antikörper tauchen üblicherweise etwas früher auf als IgG-Antikörper. Der mikroskopische Agglutinationstest (MAT) und Enzymimmunoassays (EIA) sind zwei serologische Testverfahren, die für die Labordiagnose von Leptospirose verwendet werden. Lebende Leptospiren, die zu verschiedenen Serovaren gehören, müssen im Labor erhalten werden, damit man sie als Antigene im MAT verwenden kann. EIAs stellen üblicherweise nur Antikörper fest, die mit breitreaktiven genus-spezifischen Antigenen reagieren und somit keinen Hinweis auf die verursachenden Serovare oder Serogruppen geben. Auf Chemilumineszenz basierende Nachweismethoden finden aufgrund ihres niedrigen Hintergrunds, ihrer Linearität und ihres weiten dynamischen Bereichs große Beachtung. Bei Kopplung mit Enzymimmunoassays ermöglicht die vom Enzym ausgehende Signalverstärkung die Schaffung eines CLIA-Tests (Chemilumineszenz-ImmunoAssay) mit kürzeren Inkubationszeiten, während die Empfindlichkeit erhalten oder gar verbessert wird.

## PRÜFGRUNDSATZ

Die CLIA-Methode basiert auf der Reaktion der Antikörper in der Probe mit dem auf der Polystyroloberfläche der Titelplatte adsorbierten Antigen. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschen entfernt. In einem zweiten Schritt bindet sich ein enzymmarkiertes Anti-Human-Globulin an den Antigen-Antikörper-Komplex und das ungebundene Konjugat wird durch Waschen entfernt. Das gebundene Konjugat wird unter Verwendung einer Chemilumineszenzsubstratlösung gebildet. Dies erzeugt eine "Helligkeitstyp"-Lumineszenz, die mit einem Luminometer abgelesen werden kann.

## EIGENSCHAFTEN DES KITS

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig. Serumverdünnungspuffer und Konjugat sind gefärbt, um die Abarbeitung des Kits zu erleichtern. Eine Probenverdünnung ist nicht notwendig. Die zur Durchführung des Tests erforderlichen Reagenzien werden in der Monodosis-Packung mitgeliefert.

## MITGELIEFERTE MATERIALIEN

[1] VIRCLIA® LEPTOSPIRA IgM MONODOSE: 24 Monodosen bestehend aus 3 Reaktionsvertiefungen und 5 Reagenzvertiefungen mit folgender Zusammensetzung:

Vertiefungen A, B, C: Reaktionsvertiefungen; Vertiefungen beschichtet mit gereinigten *Leptospira interrogans*-Membranantigenen. Enthält inaktiviertes Antigen. Enthält Material tierischen Ursprungs.  
 Vertiefung D: Konjugat: Orange; enthält Anti-Human-IgM-Peroxidasekonjugat-Verdünnungsmittel und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel. Enthält Material tierischen Ursprungs.  
 Vertiefung E: Serum-Verdünnungslösung: blau; Phosphat-Puffer, der Proteinstabilisierer, Anti-Human-IgG und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material tierischen Ursprungs.  
 Vertiefung F: Kalibrator: durchsichtig; positive Serum-Verdünnungslösung, die 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on und 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan als Konservierungsmittel enthält. Enthält Material humanen Ursprungs. Enthält Material tierischen Ursprungs.  
 Vertiefung G: Substratkomponente B: durchsichtig; enthält Peroxid.  
 Vertiefung H: Substratkomponente A: durchsichtig; enthält Luminol.

## Spezielle Materialien, die benötigt, aber nicht mitgeliefert werden:

-VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS (REF:VCMAR).  
 -Automatischer CLIA-Prozessor.

## LAGERUNGS- UND HANDHABUNGSBEDINGUNGEN

Bei 2-8°C lagern. Reagenzien nicht nach Ablauf des Verfallsdatums einsetzen. Das Verfallsdatum der Reagenzien ist nur gültig bei Lagerung in gut verschlossenem Zustand bei 2-8°C.

## HALTBARKEIT NACH ANBRUCH

VIRCLIA® MONODOSE: Nach dem Öffnen am gleichen Tag verwenden. Die Substratkomponente A ist lichtempfindlich. Vor Lichteinstrahlung schützen. Die Substratlösungen sollten nicht mit Säure, brennbaren Materialien und starken Oxidations- oder Reduktionsmitteln in Kontakt kommen. Stellen Sie sicher, dass keine metallischen Teile mit dem Substrat in Kontakt kommen, ohne dass deren Kompatibilität zuvor getestet wurde. VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

## WARNUNGEN UND VORSICHTSHINWEISE

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Das Produkt sollte auf Personal begrenzt werden, das in der Technik geschult wurde.
3. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung vor der Testdurchführung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig.
4. Verwenden Sie nur die in dieser Broschüre beschriebenen Protokolle. Wenn die Bedingungen nicht den Angaben entsprechen, sind die Ergebnisse möglicherweise falsch.
5. Tragen Sie beim Umgang mit Proben persönliche Schutzausrüstung. Waschen Sie Ihre Hände beim Umgang mit Proben gründlich. Alle Verfahren müssen in Übereinstimmung mit den genehmigten Sicherheitsstandards durchgeführt werden.
6. Für jeden Testschritt neue Pipettenspitzen verwenden. Nur sauberes, vorzugsweise Einweg-Material verwenden.
7. Nicht mit dem Mund pipettieren.
8. Keine beschädigten Kits verwenden.
9. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.
10. Wenn der Test oder seine Elemente im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor der Verwendung Raumtemperatur haben.
11. Lassen Sie die Reagenzien nicht länger als unbedingt erforderlich auf einer anderen Temperatur als empfohlen.
12. Halten Sie Behälter für Proben und Reagenzien geschlossen, wenn diese nicht bearbeitet werden.
13. Vermeiden Sie die Verwendung von Proben, die wiederholten Gefrier-Auftau-Zyklen ausgesetzt sind.
14. Verwenden unter aseptischen Bedingungen, um eine mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
15. Das Reagenz in diesem Kit könnte Substanzen tierischen Ursprungs und/oder humanen Ursprungs und/oder inaktiviertes Antigen enthalten (siehe „Mitgelieferte Materialien“). Obwohl Material menschlichen Ursprungs auf Hepatitis B-Oberflächenantigen (HBsAg), Hepatitis C-Antikörper und Human Immunodeficiency Virus-Antikörper getestet und für negativ befunden wurde, sollten alle Patientenmaterialien und -proben als potenziell infektiös gehandhabt werden.

werden und unter Verwendung von Sicherheitslaborverfahren beseitigt werden. Keine aktuelle Methode kann eine vollständige Garantie dafür bieten, dass diese oder andere infektiöse Erreger nicht vorhanden sind. Nicht verwendete Reagenzien und Abfälle gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgen.

16. Nur Kit-Bestandteile verwenden. Reagenzien aus Kits unterschiedlicher Chargennummer oder von anderen Herstellern dürfen nicht verwendet werden. Nur Bestandteile des VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS Hilfsreagenzien-Kits sind mit allen VIRCLIA®-Referenznummern und -Chargen kompatibel.

17. Verwenden Sie dieses Produkt nicht zusammen mit automatisierten Prozessoren, es sei denn sie wurden zuvor für diesen Zweck validiert.

18. 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.

#### Sicherheitsvorkehrungen.

Beachten Sie die folgenden Sicherheitshinweise: Für weitere Informationen steht ein Sicherheitsdatenblatt zur Verfügung.

Mitgelieferte Materialien	Gefährliche Inhaltsstoffe:	Gefahrenhinweise (CLP):
[1] VIRCLIA® LEPTOSPIRA IgM MONODOSE	2-Methyl-2H-isothiazol-3-on CAS-Nr: 2682-20-4 EG-Nr: 220-239-6	H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Gefahrenhinweise (CLP): H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.

Gefahrenpiktogramme (CLP):  GHS07 Gesundheitsgefahr/Die Ozonschicht schädigend

CLP Signalwort: Achtung

Sicherheitshinweise (CLP):  
 P261 – Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.  
 P272 – Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen.  
 P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.  
 P302+P352 – Bei Berührung mit der Haut: Mit viel Wasser waschen.  
 P321 – Sonderbehandlung (siehe ergänzende Erste-Hilfe-Anweisungen auf diesem Etikett).  
 P333+P313 – Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

#### BEDINGUNGEN FÜR DIE ENTNAHME, BEHANDLUNG UND AUFBEREITUNG DER PROBE

Blut sollte unter aseptischen Bedingungen durch Venenpunktion und von qualifiziertem Personal entnommen werden. Der Einsatz einer sterilen oder aseptischen Technik gewährleistet die Unversehrtheit der Probe. Serum- und Plasmaprobe sollten nach der Entnahme gekühlt aufbewahrt werden (bei 2-8°C); kann der Test nicht innerhalb von 7 Tagen nach Entnahme durchgeführt werden, so sind die Proben tief zu frieren (-25- -15°C). Proben sollten nicht wiederholt gefroren und aufgetaut werden. Lipämische, hämolytische oder kontaminierte Seren nicht testen. Seren, die grobe Partikel enthalten oder trüb sind, sollten vor dem Einsatz zentrifugiert werden. Serum- und Plasmaprobe können gleichermaßen verwendet werden.

#### PRODUKTVORBEHANDLUNG

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig. Nur die im VIRCLIA® AUXILIARY REAGENTS-Kit enthaltene Waschlösung VIRCLIA® WASHING SOLUTION muss im Voraus zubereitet werden. Geben Sie 50 ml der VIRCLIA® WASHING SOLUTION (20x) zu 1 Liter Aqua dest. Sollten sich während der Lagerung des Waschpuffer-Konzentrates Salzkristalle gebildet haben, Lösung vor dem Verdünnen auf 37°C erwärmen, bis sich die Kristalle aufgelöst haben. Verdünnte Lösung bei 2-8°C lagern.

#### TESTVERFAHREN

- Lassen Sie die VIRCLIA® WASHING SOLUTION (gemäß den Anweisungen verdünnt) vor Gebrauch (etwa 1 Stunde) auf Zimmertemperatur aufwärmen.
- Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des automatisierten Prozessors.

#### INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Jede Charge wird einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, bevor einer Freigabe unter Spezifikationen zugestimmt wird, die strenger als die für den Anwender sind. Die endgültigen Ergebnisse der Qualitätskontrolle jedes einzelnen Artikels sind erhältlich.

Dem Kontrollmaterial liegen als Referenz nachweislich intern geprüfte Serumplatten zugrunde.

#### TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER

Jede Monodosierung beinhaltet einen Kalibrator (Vertiefung A) und ein Verdünnungsmittel des als negative Kontrolle verwendeten Kalibrators (Vertiefung C). Dadurch können Test und Kit validiert werden.

Die Gerätesoftware bestätigt die für die Kontrollen erhaltenen Daten und zeigt diese im Ergebnisbericht an. Befolgen Sie die Bedienungsanleitung des automatisierten Prozessors. Bei einer Abweichung der Kontrollwerte von den Sollwerten können die Ergebnisse nicht validiert werden.

#### BERECHNUNGEN UND ERGEBNISAUSWERTUNG

Antikörper-Index=(Proben RLU/Kalibrator RLU)

Index	Interpretation
<0,9	Negativ
0,9-1,1	Grenzwertig
>1,1	Positiv

Proben mit grenzwertigem Ergebnis müssen erneut getestet werden und/oder eine neue Probe sollte als Bestätigung herangezogen werden.

Bei Proben mit einem Index von unter 0,9 gilt: kein Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

Bei Proben mit einem Index von über 1,1 gilt: Bestehen von Antikörpern der von diesem Kit gemessenen Spezifität und Klasse.

#### VERWENDUNGSBESCHRÄNKUNGEN

- Das Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma.
- Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden. Eine endgültige Diagnose sollte durch direkte Diagnostiktechniken gestellt werden.
- Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
- Zu Beginn der Infektion entnommene Proben weisen möglicherweise keine nachweisbaren Antikörperspiegel auf. In diesen Fällen wird empfohlen, eine zweite Probe zu entnehmen, die 14 bis 21 Tage später entnommen wird und parallel zur Originalprobe getestet werden soll, um eine Serokonversion zu bestimmen.
- IgG-Befunde bei Neugeborenen müssen mit Vorsicht interpretiert werden, da das mütterliche IgG passiv auf den Fötus übertragen werden kann. IgM-Nachweise sind generell besser geeignet, um eine Infektion bei Kindern unter 6 Monaten aufzuzeigen.
- Bei immunsupprimierten Patienten schließt ein negatives Ergebnis keine vorhandene Infektion aus.
- Ein nicht nachweisbarer Antikörperspiegel schließt eine mögliche Infektion nicht aus.
- Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.
- Die Durchführung dieses Tests wurde nicht bei Patienten ohne klinische Anzeichen und ohne Symptome einer Infektion untersucht.
- Geringe IgM-Pegel könnten gelegentlich mehr als 12 Monate nach der Infektion andauern.
- Positive und negative prädiktive Werte hängen stark von der Prävalenz ab. Falschnegative Testergebnisse sind wahrscheinlicher, wenn die Krankheit weit verbreitet ist. Falschpositive Ergebnisse sind wahrscheinlicher bei niedriger Prävalenz.
- Die angegebenen Testergebnisse entsprechen komparativen Studien mit kommerziellen prädikativen Produkten in einer definierten Bevölkerungsstichprobe. Es können kleine Unterschiede zwischen verschiedenen Bevölkerungen oder verschiedenen prädikativen Produkten bestehen.

#### LEISTUNGSMERKMALE

##### SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

Serum-/Plasmaprobe wurden im Vergleich zu kommerziellen ELISA- und Immunfluoreszenz-Kits getestet. Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe Nr	91	
Sensitivität (%)	86	
	95% CI	69-94
Spezifität (%)	98	
	95% CI	90-100
PPV (%)	96	
NPV (%)	93	
LR+/LR-	-0,88/-0,86	

CI: Konfidenzintervall  
 PPV: Positiver prädiktiver Wert  
 NPV: Negativer prädiktiver Wert  
 LR+: Positives Wahrscheinlichkeitsverhältnis  
 LR-: Negatives Wahrscheinlichkeitsverhältnis



Gebrauchsanleitung beachten



Hersteller

#### LITERATUR

- Cullen, P. A. et al. 2005. Surfaceome of *Leptospira* spp. *Infect Immun*, 73(8), 4853-63.
- Murray, G. L. 2013. The lipoprotein LipL32, an enigma of leptospiral biology. *Vet Microbiol*, 162(2-4), 305-14.
- Rajapakse, S. et al. 2015. Current immunological and molecular tools for leptospirosis: diagnostics, vaccine design, and biomarkers for predicting severity. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 16, 14:2.
- Schreier, S. et al. 2013. Leptospirosis: current situation and trends of specific laboratory tests. *Expert Rev Clin Immunol*, 9(3), 263-80.
- Toyokawa, T. et al. 2011. Diagnosis of acute leptospirosis. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9(1), 111-21.
- Velan, B. and Halmann, M. 1978. Chemiluminescence immunoassay. A new sensitive method for determination of antigens. *Immunochemistry*, 15(5), 331-333.
- Whitehead, T. P. et al. 1979. Analytical luminescence: its potential in the clinical laboratory. *Clin Chem*, 25(9), 1531-46.
- World Health Organization. 2003. Human leptospirosis: guidance for diagnosis, surveillance and control. WHO.
- Zhao, L. et al. 2009. Chemiluminescence immunoassay. *Trends Anal Chem*, 28(4), 404-415.

#### GENAUIGKEIT INNERHALB EINES DURCHLAUFS

3 Proben werden individuell jeweils 10 Mal in einem einzelnen automatisierten Assay unter im Wesentlichen unveränderten Bedingungen getestet. Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positive Probe	18,4
Kalibrator	14,0
Negativkontrolle	39,8

CV: Variationskoeffizient

#### GENAUIGKEIT ZWISCHEN DEN DURCHLÄUFEN

3 Proben werden individuell jeweils 5 aufeinander folgende Tage in 2 verschiedenen automatisierten Prozessoren getestet. Die Ergebnisse lauteten wie folgt:

Probe	% CV
Positive Probe	9,0
Kalibrator	9,9
Negativkontrolle	37,7

CV: Variationskoeffizient

Versionsnummer: L-VCM014-DE-01

Datum: 2021/12/03

Vorhergehende Version: 2017/02

Aktualisierungen: Generelle Überarbeitung-Einhaltung von REACH/CLP

#### INTERFERENZEN

##### Interferenzen - Antinukleären Antikörper / Rheumafaktoren

27 Proben, die positiv auf den antinukleären Antikörpern und Rheumafaktor reagieren, wurden getestet. Mit antinukleären Antikörpern (2 von 11 Proben getestet) wurde eine Interferenzen festgestellt. Mit Rheumafaktoren (16 Proben getestet) wurde keine Interferenzen festgestellt.

##### Interferenzen - Endogene Stoffe

Mit jedem Störfaktor wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Bei hämolytischen (8,5 g/L Hämoglobin), ikterischen (6 g/L Bilirubin) oder hyperlipämischen (4 g/L Cholesterin und 2 g/L Tributyrin) Proben wurden keine Störungen festgestellt.

##### Interferenzen - Antikoagulanzen

Mit jedem Antikoagulans wurden 3 Proben getestet. Die Spezifikationen wurden in allen Fällen erfüllt. Es wurden keine Interferenzen mit Heparin (30 IU/mL), Citrat (0,13 mol/L) und EDTA (2 mg/mL) festgestellt.

#### KREUZREAKTIVITÄT

27 Proben, die positiv auf andere Mikroorganismen (*Epstein-Barr Virus VCA*, *Treponema pallidum* und *Borrelia burgdorferi*) wurden getestet.

Mit *Treponema pallidum* (9 Proben getestet) und *Borrelia burgdorferi* (10 Proben getestet) wurde keine Kreuzreaktivität festgestellt. Mit Epstein-Barr-Virus VCA (1 von 8 Proben getestet) wurde eine Kreuzreaktivität festgestellt.

#### BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLE



Für die *In-vitro* Diagnostik



Verwendbar bis (Verfallsdatum)



Bei x-y°C lagern



Inhalt ausreichend für <n> Bestimmungen



Chargen-Nummer



Bestell-Nummer