

VIRAPID® HYDATIDOSIS

Für die *In vitro* diagnostik

VR004: Immunochromatographie-Test für die qualitative Bestimmung von Antikörpern gegen *Echinococcus granulosus* in humanem Serum/Plasma. 25 Tests.

EINLEITUNG:

Echinococcus granulosus ist der Erreger der Hydatidose beim Menschen. In der adulten Phase bevölkert er den Dünndarm von Hunden (definitive Wirte) mit Parasiten, während er in der Larvenphase Schafe (Zwischenwirte) und sekundär oder versehentlich auch viele andere Tiere und sogar den Menschen befällt. Die Larvenphase führt bei den Zwischenwirten zu hydatiden Zysten, die sich in den inneren Organen des Wirts, hauptsächlich in der Leber (meistens im rechten Lappen), danach in der Lunge und in anderen Organen wie Gehirn und den Knochen befinden.

Die Immunantwort hängt von dem Ort und der Integrität der Zyste ab. Leber- und Knochenzysten sind reaktiver als die von Lunge, Gehirn und Milz. Serologische Tests sind zusammen mit Bildtechniken die am häufigsten angewendeten Verfahren bei der Diagnose von Hydatidose. Bei krebserkrankten Patienten und solchen, die durch andere Helminthen (hauptsächlich mit Zystizerkose) infiziert wurden, kann es zu Kreuzreaktionen kommen.

Das Kit VIRAPID® HYDATIDOSIS verwendet ein *Echinococcus granulosus*-Antigen, das mit 5/B angereichert und durch HPLC gereinigt ist, sowohl im Konjugat (kolloidales Gold) als auch in der Testlinie, was die Spezifität des Tests verbessert und gleichzeitig eine hohe Empfindlichkeit bewahrt.

PRINZIP DES TESTS:

Wird die Probe in die Testmulde gegeben, löst sich das kolloidale Gold und bewirkt die erste Immunreaktion zwischen den spezifischen Antikörpern des Serums/Plasmas mit dem in dem Gold adsorbierten Protein. Diese Komplexe wandern durch die Membran bis zur Reaktionslinie (Testlinie) und führen zu einem gefärbten Streifen, falls der nachzuweisende Analyt in der Probe vorhanden ist. Neben der Testlinie weist der Streifen eine Kontrolllinie auf, deren Aufgabe es ist, den Versuch zu validieren, wobei dieser in jedem Fall erscheinen muss, auch wenn die Probe negativ ist.

EIGENSCHAFTEN DES KITS:

Wir empfehlen Ihnen, aufmerksam den Abschnitt „Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen“ durchzulesen. Der Test wird in wenigen Minuten mit Hilfe einer Mikropipette und eines Chronometers durchgeführt, und kann visuell abgelesen werden.

BESTANDTEILE DES KITS:

- 1 VIRCELL HYDATIDOSIS CASSETTE: 25 Kassetten für die qualitative Detektion der Totale Antikörper gegen *Echinococcus granulosus*.
- 2 VIRCELL HYDATIDOSIS DEVELOPER SOLUTION: 3 ml Pufferlösung. Enthält Natriumazid.

Bei 2-30°C lagern, Verfallsdatum überprüfen

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten
Mikropipetten und entsprechende Spitzen.
Chronometer.

LAGERBEDINGUNGEN:

Bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank bei 2 bis 30°C aufbewahren. **Nicht einfrieren.**

Verwenden Sie die Komponenten des Kits nicht mehr nach Ablauf des Verfallsdatums. Das angegebene Verfallsdatum gilt nur dann, wenn die Komponenten geschlossen bei 2 bis 30°C gelagert werden.

LAGERUNG DER ANGEBROCHENEN REAGENZIEN:

Reagenz	Stabilität und Lagerung
VIRCELL CASSETTE	Nach dem Öffnen innerhalb von einer Stunde benutzen.
Restliche Komponenten	Bei 2-30°C lagern und vor Ablauf des Verfallsdatums verwenden

STABILITÄT UND HANDHABUNG DER REAGENZIEN:

Das Kit ist bis zum Ablauf des Verfallsdatums stabil bei 2-30°C. Verwenden Sie alle Reagenzien unter aseptischen Bedingungen, um eine Kontaminierung durch Mikroben zu verhindern.

VIRCELL, S.L. haftet nicht für die unsachgemäße Verwendung der im Kit enthaltenen Reagenzien.

EMPFEHLUNGEN UND VORSICHTSMAßNAHMEN:

1. Einsatz ausschließlich für *in-vitro* diagnostische Zwecke. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Nur Kit-Bestandteile verwenden. VIRCELL CASSETTES und VIRCELL DEVELOPER SOLUTION verschiedener Chargen oder Kits nicht untereinander austauschen.
3. Die Proben müssen so behandelt werden, als wären sie infektiös, gemäß den Sicherheitsverfahren in Laboratorien.
4. Verwenden Sie Einmal-Schutzhandschuhe, einen Laborkittel und eine Schutzbrille, wenn Sie die Proben handhaben. Waschen Sie sich nach der Handhabung der Proben sorgfältig die Hände.
5. Verwenden Sie das Kit nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr.
6. Jedes nicht verwendete Material muss gemäß den geltenden Bestimmungen entsorgt werden.
7. Die Komponenten dieses Geräts können Substanzen tierischen und/oder menschlichen Ursprungs haben. Auch wenn dieses Material nicht infektiös ist, muss es als potenziell infektiös behandelt werden. Die Kassetten sind mit inaktiviertem Antigen von *E. granulosus* beschichtet. Trotzdem sollten auch sie als potentiell infektiös angesehen und mit der nötigen Vorsicht behandelt werden. Gegenwärtig kann keine Methode eine vollständige Abwesenheit von infektiösen Bestandteilen garantieren. Das gesamte Material muss als potenziell infektiös gehandhabt und entsorgt werden. Beachten Sie die lokalen Bestimmungen für klinische Abfälle.
8. Die Entwicklerlösung enthält Natriumazid. Das Natriumazid kann mit Metallrohren reagieren und explosive Komponenten bilden. Verwenden Sie viel Wasser, wenn Sie die Lösung entsorgen.
9. Wenn der Test oder Teile davon (Kassetten oder Entwicklerlösung) im Kühlschrank aufbewahrt werden, müssen sie vor ihrem Gebrauch Raumtemperatur aufweisen.



10. Die Kassetten sind in den ungeöffneten Verpackungen bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum haltbar. Die Verpackung erst direkt vor dem Gebrauch öffnen.

11. Es können verschiedenen Tests gleichzeitig durchgeführt werden.

12. Um Kontaminationen zu vermeiden, darf die Spitze der Flasche mit der Entwicklerlösung nicht die Mikrotiterplatte der Probe berühren.

13. Es ist wichtig, dass die Tropfengröße der Entwicklerlösung die richtige ist. Dazu leicht drücken, damit zwischen zwei Proben Luft durch die Flasche strömen kann.

14. Es muss vermieden werden, hämolysierte Proben zu verwenden sowie solche, die zu häufig eingefroren und wieder aufgetaut worden sind. In beiden Fällen können falsche Ergebnisse (bedeutender Verlust des Signals) und Ablesefehler wegen mangelnder Sichtbarkeit resultieren.

PROBENGEWINNUNG UND HANDHABUNG:

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. Serumproben 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 (-20°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.

TESTVORBEREITUNG:

Alle gelieferten Reagenzien sind gebrauchsfertig.

TESTDURCHFÜHRUNG:

1. Nehmen Sie alle Reagenzien eine Stunde vor der Durchführung des Tests heraus, damit sie Raumtemperatur erreichen, und vermeiden Sie, die Kassette aus der Verpackung zu nehmen.
2. Öffnen Sie die Verpackung und legen Sie Kassette **1** auf eine ebene Fläche.
3. Geben Sie mit einer Mikropipette 30 µl Probe in die Vertiefung und warten Sie, bis der Tropfen absorbiert wird.
4. Geben Sie Tropfen Entwickler-Lösung **2** in die Vertiefung.
5. Ablesen der Ergebnisse nach 30 Minuten.

 **Späteres Ablesen als nach 30 Minuten kann zu ungenauen Ergebnissen führen.**

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

Jede Charge wird vor ihrer Auslieferung einer internen Qualitätskontrolle unterzogen, wobei das Validierungsprotokoll strengste Anforderungen erfüllt. Das Protokoll zu jeder Charge ist auf Anfrage verfügbar.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE UND TEST-VALIDIERUNG FÜR ANWENDER:

Um die Ablesung der Ergebnisse durchzuführen und festzustellen, ob die Probe positiv ist, wird eine im Kit enthaltene Intensitätenkarte verwendet. Diese weist vier farbmetrische Stufen von 0,5 bis 3 auf. Wenn die Intensität der Testlinie unter 0,5 liegt, wird die Probe als negativ angesehen.

Sie gilt als positiv, wenn der Streifen größer oder gleich diesem Wert ist.

Wenn in der Probe Antikörper von *E. granulosus* vorhanden sind, erscheint zusätzlich zur Kontrolllinie eine gefärbte Linie in dem entsprechenden Bereich. Sollte die Kontrolllinie nicht erscheinen, ist das Ergebnis ungültig und es wird empfohlen, den Test mit einer anderen Kassette zu wiederholen.

EINSCHRÄNKUNGEN:

1. Der Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma.
2. 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.
3. Dieser Test zeigt nicht den Infektionsort. Er kann eine Erregerisolierung nicht ersetzen.
4. Wie bei jedem diagnostischen Test müssen die Ergebnisse unter Berücksichtigung aller klinischen und Labordaten bewertet werden. Die Ergebnisse der Proben sollten immer in Verbindung mit den klinischen Daten und anderen diagnostischen Ergebnissen interpretiert werden.
5. Die Testergebnisse sind qualitativer Natur. Es besteht keine Korrelation zwischen der Größe des positiven Ergebnisses und dem Antikörper-Titer in der Probe.
6. Dieser Test ist verifiziert worden, um mit humanen Serum/Plasma verwendet zu werden. Er ist nicht für andere Arten von Proben verifiziert worden.
7. Die Zuverlässigkeit der Ergebnisse hängt von einer geeigneten Probengewinnung, Transport, Lagerung und Verarbeitungsverfahren ab.
8. Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion nicht aus.
9. Ein positives Testergebnis schließt die Möglichkeit nicht aus, weitere Pathogene mit der Erkrankung assoziiert sind.
10. Das Kit wurde nicht für die Überwachung der Krankheit nach der Behandlung geprüft.

LEISTUNGSDATEN:

• SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT:

Getestet wurden 282 Proben gegenüber im Handel erhältlichen Hämoagglutinations- und ELISA-Test. Die Ergebnisse sind wie folgt:

	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Testlinie	94,74%	99,5%

• INTRA-ASSAY GENAUIGKEIT:

2 Proben (eine positive in der Nähe der Bestimmungsgrenze für jeden Test und eine negative) wurden 5 Mal in einem einzigen Test untersucht, der von demselben Anwender unter denselben Arbeitsbedingungen durchgeführt wurde. In allen Tests wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet.

• INTER-ASSAY GENAUIGKEIT:

2 Proben (eine positive in der Nähe der Bestimmungsgrenze für jeden Test und eine negative) wurden einzeln 3 Tage lang nacheinander von zwei verschiedenen Anwendern getestet. In allen Tests wurden ähnliche Ergebnisse beobachtet.



• KREUZREAKTIVITÄT UND INTERFERENZEN:

8 Proben, die positiv für andere Mikroorganismen der taxonomischen Gruppe (*Leishmania infantum*, *Taenia solium*, *Trichinella spiralis*, *Toxoplasma gondii*) waren, wurden mit VIRAPID® Hydatidosis IgG getestet.

Die Testergebnisse zeigten die spezifische Reaktion des Kits ohne Kreuzreaktion oder Interferenzen mit den betreffenden Proben.

Kreuzreaktionen können bei Patienten, die von anderen Darmwürmern befallen sind (vor allem bei Zystizerkose) sowie bei onkologischen Prozessen auftreten.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS:

	Für die <i>In vitro</i> Diagnostik
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x-y lagern
	Inhalt ausreichend für n Bestimmungen
	Chargen-Nummer
	Bestell-Nummer
	Gebrauchsanleitung beachten
	Negatives Ergebnis
	Positives Ergebnis: geringe Intensität
	Positives Ergebnis: hohe Intensität
	Karte für die Interpretation von VIRAPID®

LITERATUR:

1. Arola, M., O. Ruuskanen, T. Ziegler, and T. T. Salmi. 1995. Respiratory virus infections during anticancer treatment in children. *Pediatr Infect Dis J* 14:690-4.
2. Doiz, O., R. Benito, Y. Sbihi, A. Osuna, A. Clavel, and R. Gomez-Lus. 2001. Western blot applied to the diagnosis and post-treatment monitoring of human hydatidosis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 41:139-42.

3. Gadea, I., G. Ayala, M. T. Diago, A. Cunat, and J. G. de Lomas. 1999. Immunological diagnosis of human cystic echinococcosis: utility of discriminant analysis applied to the enzyme-linked immunoelectrotransfer blot. *Clin Diagn Lab Immunol* 6:504-8.
4. Goodchild, C. G. and I. G. Kagan. 1961. Comparison of proteins in hydatid fluid and serum by means of electrophoresis. *J Parasitol* 47(2):175-80.
5. Grimm, F., F. E. Maly, J. Lu, and R. Llano. 1998. Analysis of specific immunoglobulin G subclass antibodies for serological diagnosis of Echinococcosis by a standard enzyme-linked immunosorbent assay. *Clin Diagn Lab Immunol* 5:613-6.
6. Guisantes, J. A., L. A. Yarzabal, V. M. Varela-Diaz, M. I. Ricardes, and E. A. Coltorti. 1975. Standardization of the immunoelectrophoresis test with whole and purified hydatid cyst fluid antigens for the diagnosis of human hydatidosis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 17:69-74.
7. J. Eckert, M.A. Gemmell, F. X., Meslin and Z. S. Pawlowski 2002 WHO/OIE Manual on Echinococcosis in Humans and Animals: A Public Health Problem of Global Concern.
8. Oriol, R., J. F. Williams, M. V. Perez Esandi, and C. Oriol. 1971. Purification of lipoprotein antigens of *Echinococcus granulosus* from sheep hydatid fluid. *Am J Trop Med Hyg* 20:569-74.
9. Ravinder, P. T., S. C. Parija, and K. S. Rao. 2000. Urinary hydatid antigen detection by coagglutination, a cost-effective and rapid test for diagnosis of cystic echinococcosis in a rural or field setting. *J Clin Microbiol* 38:2972-4.
10. Rogan, M. T., P. S. Craig, E. Zeyhle, T. Romig, G. M. Lubano, and L. Deshan. 1991. Evaluation of a rapid dot-ELISA as a field test for the diagnosis of cystic hydatid disease. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 85:773-7.
11. Seyed Mahmoud Sadjjadi, Farzaneh Sedaghat, Seyed Vahid Hosseini and Bahador Sarkari 2009 Serum antigen and antibody detection in Echinococcosis: Application in serodiagnosis of human hydatidosis. *Korean J Parasitol* 47(2):153-157
12. Verastegui, M., P. Moro, A. Guevara, T. Rodriguez, E. Miranda, and R. H. Gilman. 1992. Enzyme-linked immunoelectrotransfer blot test for diagnosis of human hydatid disease. *J Clin Microbiol* 30:1557-61.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:

customerservice@vircell.com

BERPRÜFT: 05/2014

