

VIRAPID® TULAREMIA

Für die *In vitro* diagnostik

VR006: Immunochromatographie-Test für die qualitative Bestimmung der von Antikörpern gegen *Francisella tularensis* in humanem Serum/Plasma. 10 Tests.

EINLEITUNG:

Tularämie ist eine zoonotische Erkrankung, die durch *Francisella tularensis* verursacht wird. *F. tularensis* umfasst vier Subspezies, von denen die Subspezies tularensis oder Typ A, die vorwiegend in Nordamerika nachweisbar ist, sowohl für Mensch als auch für Tier die virulenteste Form ist. Typ B ist in Europa und Asien verbreitet und verursacht eine weniger virulente Form der Erkrankung. Das Bakterium zirkuliert in Nage- und Hasentierpopulationen und führt nicht selten zu Ausbrüchen beim Menschen, die parallel zu Epidemien in Tierpopulationen auftreten. Die Inkubationszeit beträgt normalerweise 3-5 Tage (Schwankungsbereich 1-21 Tage). In den meisten Fällen handelt es sich bei der Tularämie um eine ulzeroglanduläre Erkrankung mit einem Geschwür an der Eintrittsstelle und regionaler Lymphadenopathie. Das Anschwellen der Lymphknoten kann trotz Behandlung längere Zeit dauern. Die Erkrankung kann auch andere Formen ausbilden (okuloglandulär und oropharyngeal). Gelegentlich weisen Tularämie-Patienten eine unspezifische systemische Fiebererkrankung (typhöse Tularämie) ohne nachweisliche Eintrittsstelle auf. Die pulmonale Erkrankung kann auf natürliche Weise entstehen (pulmonale Tularämie), tritt aber nicht häufig auf. Tularämie wird durch direkten Kontakt mit infizierten Tieren oder ihrem Gewebe, Verzehr infizierten rohen Fleisches oder Trinken von verseuchtem Wasser, von Tieren verursachte Bisse oder Kratzer, Stiche/Bisse von Gliederfüßern und Einatmen von verseuchtem Aerosol oder Staub übertragen. Tularämie spricht gut auf Antibiotikatherapien an und die Mortalität der akutesten Krankheitsform wird signifikant reduziert, wenn der Patient entsprechende Antibiotika erhält.

Die Diagnose von Tularämie durch das Anlegen von Kulturen ist schwierig, da der Organismus unter Verwendung der Routinemittel nur gering wächst. Die geringe Sensibilität der Methoden zum Anlegen von Kulturen sowie die fehlende Standardisierung der PCR-Methoden zum direkten Nachweis des Pathogens sind der Grund dafür, dass serologische Untersuchungen die gebräuchlichste Methode für die Diagnose von Tularämie sind. Die Antikörperkonzentrationen können bereits während der ersten Woche nach der Infektion gemessen werden, obwohl sich signifikante Konzentrationen in der Regel nach zwei Wochen zeigen. Es können nachweisbare Konzentrationen von Antikörpern gegen *F. tularensis* noch über Jahre festgestellt werden.

VIRAPID® TULAREMIA verwendet sowohl für das Konjugat (kolloidales Gold) als auch für die Testlinie ein Lipopolysaccharid (LPS) der Membran von *Francisella tularensis*, um die Spezifität des Tests zu verbessern und gleichzeitig eine hohe Sensibilität aufrecht zu erhalten.

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:

Der Test wird in wenigen Minuten mithilfe herkömmlicher Materialien und Geräte in Analyselaboren durchgeführt und kann visuell abgelesen werden.

Wir empfehlen Ihnen, aufmerksam den Abschnitt „Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen“ durchzulesen.

BESTANDTEILE DES KITS:

- 1 VIRCELL TULAREMIA CASSETTE: 10 Kassetten zum spezifischen Nachweis der Gesamtantikörper gegen *Francisella tularensis*.
- 2 VIRCELL TULAREMIA DEVELOPER SOLUTION: 1.5 ml Pufferlösung. Enthält Natriumazid.

Bei 2-30°C lagern, Verfallsdatum überprüfen

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten

- Automatische 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. 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 Kontaminierungen 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. Mit einer automatischen Mikropipette geben Sie in die Vertiefung der Mikrotiterplatte 20 µl Probe, und warten Sie, dass der Tropfen absorbiert wird.
4. Geben Sie in die Vertiefung der Mikrotiterplatte zwei Tropfen Entwicklerlösung **2**.
5. Ablesen der Ergebnisse nach 15 Minuten.

⚠ Späteres Ablesen als nach 15 Minuten kann zu ungenauen Ergebnissen führen.

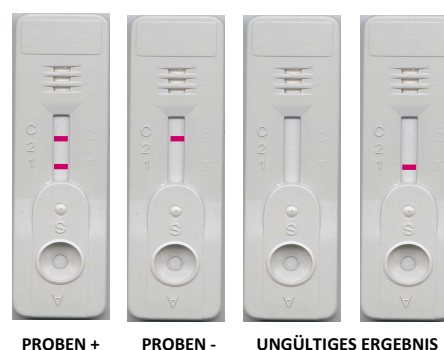
INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

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 farbmimetrische 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 *Francisella tularensis* 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.



Testlinie	Kontrolllinie	Interpretation
-----------	---------------	----------------



+	+	PROBEN POSITIVE
-	+	PROBEN NEGATIVE
-	-	UNGÜLTIGES ERGEBNIS
+	-	UNGÜLTIGES ERGEBNIS

EINSCHRÄNKUNGEN:

1. Der Kit ist für die Untersuchung von humanem Serum/Plasma entwickelt worden.
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:**

Es wurden 256 Proben mittels Mikroagglutination untersucht. Die Ergebnisse sind wie folgt:

Testlinie	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
Linie Tularämie	99,13	98,58

• 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:

Es wurden 8 Proben untersucht, die als positiv gegenüber anderen Mikroorganismen (cytomegalovirus, *Toxoplasma gondii* und Epstein-Barr virus) charakterisiert wurden. Es wurden 8 Proben untersucht, die als positiv gegenüber dem Rheumafaktor charakterisiert wurden.

Es wurde kein falsch-positives Ergebnis erhalten.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS:

	Für die <i>In vitro</i> Diagnostik
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x- ^y °C 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. Johansson, A., M. Forsman and A. Sjöstedt. 2004. The development of tools for diagnosis of tularemia and typing of *Francisella tularensis*. APMIS 112:898-907.
2. Gutierrez, M. P., M. A. Bratos, J. I. Garrote, A. Dueñas, A. Almaraz, R. Alamo, H. Rodríguez-Marcos, M. J. Rodríguez-Recio, M. F. Muñoz, A. Orduña, A. Rodríguez-Torres. 2003. Serologic evidence of human infection by *Francisella tularensis* in population of castilla y León (Spain) prior to 1997. FEMS Immunol Med Microbiol 35:165-69.
3. Jenzora, A., A. Jansen, H. Ranisch, M. Lierz, O. Wichmann and R. Grunow. 2008. Seroprevalence study of *Francisella tularensis* among hunters in Germany. FEMS Immunol Med Microbiol, 53:183-89.
4. Hepburn, M. J., Arthur M. Friedlander, and Z. F. Dembek. 2007. Tularemia, Chapter 8. In Dembek, Z. F. Medical Aspects of Biological Warfare.
5. McLendon, M. K., M. A. Apicella and L. H. Allen. 2006. *Francisella tularensis*: Taxonomy, Genetics, and Immunopathogenesis of a Potential Agent of Biowarfare. Annu Rev Microbiol 60:167-85.
6. Oyston, P. C. F. 2008. *Francisella tularensis*: unravelling the secrets of an intracellular pathogen. J Med Microbiol 57:921-30.
7. Schmitt, P., W. Splettstößer, M. Porsch-Ozcurumez, E. J. Finke and R. Grunow. 2005. A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia. Epidemiol Infect 133:759-66.



8. Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:
customerservice@vircell.com

BERPRÜFT: 05/2014

