

**Gebrauchsinformation BIOSAVE® ANTIGEN Nachweis**

Nachweis von humanpathogenen Keimen in humanem Serum, Liquor oder Stuhl mit LATEXAGGLUTINATION

Testdauer: ca. 7 min bis maximal 25 min (mit Pronase-Behandlung)

**BESTIMMUNGSGEMÄßER GEBRAUCH**

Der Biosave® Antigen Nachweis ist ein Schnelltest zur qualitativen Bestimmung von Antigenen in humanem Serum, Liquor oder Stuhl mittels Latexagglutination. Der Biosave® Antigen Nachweis ist zum Einsatz in der in vitro Diagnostik bestimmt.

**TESTPRINZIP**

Der Test basiert auf der Methode der Latexagglutination (indirekte Agglutination). Die Latexpartikel sind mit Antikörpern (vom Kaninchen) gegen das jeweilige Antigen beschichtet. Die beschichteten Latexpartikel liegen in einer stabilisierten Suspension vor. Das Latex Nachweisreagenz wird in einer Auftragstelle auf der Agglutinationskarte mit der Patientenprobe gemischt. Enthält die Probe das betreffende Antigen, reagiert dieses mit den Antikörpern auf den Latexpartikeln und es kommt innerhalb einer vorgegebenen Zeit zu einer mit dem Auge deutlich sichtbaren Zusammenballung der Latexpartikel (Agglutination). Enthält die zu untersuchende Probe kein spezifisches Antigen, so unterbleibt die Agglutination und die Mischung bleibt milchig trüb. Unspezifische Reaktionen (z.B. durch Rheumafaktoren) können durch Paralleltestung mit Kontrollreagenz, welches mit normalem Kaninchenimmunglobulin beschichtet ist, entdeckt werden. Die Verursacher unspezifischer Reaktionen sind meist Proteine, die durch Einsatz der Protease Pronase zerstört werden können. Bei Nachweisen, bei denen das nachzuweisende Antigen kein Protein ist, kann deshalb eine Vorbehandlung der Probe mit Pronase die Spezifität des Tests erhöhen. Eine andere, immer anwendbare Methode, störende Rheumafaktoren aus den Proben zu entfernen, ist die Vorbehandlung mit unserem Biosorb® (anti-human-Immunglobulin).

**GRENZEN DER METHODE**

Der Biosave® Antigen Latexagglutinationstest weist das Antigen qualitativ nach. Wie bei allen Antigen-Tests schließt ein negatives Ergebnis eine entsprechende Infektion nicht aus. Das Testergebnis sollte nicht als alleinige Basis zur Beurteilung des klinischen Bildes verwendet werden, es sollte immer im Gesamtzusammenhang (klinische Symptomatik, Zeitpunkt der Probennahme, andere Laborwerte etc.) und in Kombination mit anderen verfügbaren Patientendaten gesehen werden. Bei negativen bzw. nicht eindeutigen Ergebnissen sollte der Test nach 10-14 Tagen mit einer frischen Probe wiederholt werden.

**BIOSAVE® REAGENZIEN**

Latex Nachweisreagenz: stabilisierte Suspension von Latexpartikeln, beschichtet mit Antikörpern von Kaninchen, die gegen das betreffende Antigen gerichtet sind, gebrauchsfertig, in Tropfflasche.

Latex Kontrollreagenz: stabilisierte Suspension von Latexpartikeln, beschichtet mit normalem Kaninchenglobulin, gebrauchsfertig, in Tropfflasche.

Antikörperkontrolle: anti-Kaninchen Serum (Ziege), lyophilisiert.

Positive Kontrolle: stabilisierter Antigenextrakt, gebrauchsfertig, in Tropfflasche.

Negative Kontrolle: stabilisiertes Humanserum, ohne agglutinierende Antikörper, lyophilisiert.

Pronase: zur Behandlung der Serumproben, lyophilisiert

Verdünnungspuffer: zum Verdünnen der Proben, gebrauchsfertig.

Einmaltestkarten

Gebrauchsinformation

**ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN**

Pipetten zum Auftragen der Proben

Plastikspatel

evtl. Schwensschüttler

Kurzzeitmesser

evtl. Leuchtstofflampe

**LAGERUNG UND HALTBARKEIT**

Der Testkit und seine Bestandteile müssen bei der jeweils auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Reagenzien **ungeöffnet** bis zum Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des Verfallsdatums sind sie nicht mehr zu verwenden.

Nach Anbruch müssen die Reagenzien wieder gut verschlossen und bei der auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Sie sind dann schnellstmöglich zu verbrauchen. Der Verfall einer Charge definiert nicht die Haltbarkeit bei Wiederverwendung.

Achtung: Die Latexreagenzien dürfen auf keinen Fall eingefroren werden, da dies zu einer irreversiblen Verklumpung der Latexpartikel führt! Nach dem Rekonstituieren der lyophilisierten Reagenzien sind die Lösungen 1 Monat bei 5-10°C stabil. Trübe oder verunreinigte Lösungen dürfen nicht mehr verwendet werden. Die Einmaltestkarten können auch bei Raumtemperatur gelagert werden und sind unbegrenzt haltbar. Das Verfallsdatum auf dem Etikett dient bei den Einmaltestkarten der Organisation der Lagerhaltung.

**SICHERHEITSHINWEISE**

1. Die positive Kontrolle enthält Antigenextrakt und ist als potentiell infektiös zu betrachten. Darum sollte sie mit der entsprechenden Vorsicht verwendet werden.

2. Alle humanen Seren, die zur Herstellung der Zubereitungen aus humanen Seren (Kontrollen) verwendet wurden, sind potentiell infektiös. Sie sollten mit der entsprechenden Vorsicht verwendet werden.

3. Alle flüssigen Reagenzien (Latex Nachweisreagenz, Puffer etc.) enthalten Natriumazid oder Thimerosal als Konservierungsmittel entsprechend der Angabe auf dem Etikett. Thimerosal und Natriumazid sind giftig. Berührung mit Augen und Haut sowie Einatmen und Verschlucken sind zu vermeiden. Bei Hautkontakt sofort mit reichlich Wasser spülen. Natriumazidhaltige Reagenzien dürfen nicht mit kupfer- oder bleihaltigen Gegenständen in Verbindung gebracht werden (Bildung explosiver Salze).

4. Sicherheitsbestimmungen der Berufsgenossenschaft und des jeweiligen Institutes (Labors) bezüglich biogefährdenden, giftigen und reizenden Stoffen sind strikt zu beachten (siehe Aushänge, Laborjournal, Sicherheitsbelehrung sowie die aus Zertifizierung bzw. Akkreditierung resultierenden Arbeitsvorschriften).

5. Die aktuellen Regeln der guten Laborpraxis (Good Laboratory Practice, GLP) sollten immer beachtet werden.

6. Nach der Testdurchführung sind alle im Test benutzten Reagenzien und Seren entsprechend den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen und der Arbeitsplatz zu desinfizieren.

**UNTERSUCHUNGSMATERIAL**

Als Untersuchungsmaterial wird Serum oder Liquor eingesetzt. Bei 5-10°C ist Serum/Liquor ca. 1 Woche haltbar. Für eine längere Lagerung und Mehrfachnutzung sollten alle Proben bei  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  eingefroren werden.

**Serum:**

Zur Erhöhung der Spezifität des Tests wird empfohlen, die Serumproben mit Pronase vorzubehandeln. Die Proben dürfen keine Antikoagulanzen enthalten, da diese den Test stören können.

1. 200  $\mu\text{l}$  Serum mit 200  $\mu\text{l}$  Pronaselösung mischen und dann das Gefäß gut verschließen.

**Bios®, Biosite®, Biognost®, Biolisa®, Biosave®, Biosorb®, Biomedix®, Bionostix®, Biostik®, Biochip®, Bioservice®, Biotainer®, Biodata®, Diagnos® und Recipe® sind registrierte Warenzeichen der Firma Bios® GmbH, Deutschland**

**Die mit ® gekennzeichneten Warenzeichen in diesem Text sind Eigentum der Fa. Bios GmbH.**

**Die Gebrauchsinformationen der Firma Bios Labordiagnostik GmbH sind geistiges Eigentum der Fa. Bios und nur nach den Vorgaben der Firma Bios zu verwenden.**

Bios® Labordiagnostik GmbH, Hofmannstr. 7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/898895-41/40, e-mail: [bios@bios-world.com](mailto:bios@bios-world.com)

- Die Serum/Pronase Mischung für 15 Minuten bei 56°C inkubieren.
- Dann sofort die Mischung für 5 Minuten kochen, um die Enzymreaktion zu beenden.
- Hat die Serum/Pronase Mischung wieder Raumtemperatur erreicht, kann sie im Test eingesetzt werden. Bei Titerbestimmungen ist die 1:2 Vorverdünnung durch die Pronase Behandlung zu beachten.

**Liquor:**

Bei Liquor ist eine Inaktivierung durch 5 min Inkubation in kochendem Wasser notwendig, um unspezifische Reaktionen zu vermindern.

**VORBEREITUNG DER REAGENZIEN**

Lyophilisierte Reagenzien werden in dem jeweils auf dem Etikett angegebenen Volumen an destilliertem oder demineralisiertem Wasser rekonstituiert. Die Rekonstitution darf nicht durch Erwärmen oder heftiges Schütteln beschleunigt werden.

Die **negative Kontrolle** muss vor jedem Einsatz für 30 min bei 56°C inaktiviert werden, um eine falsch positive Reaktion durch Aggregate, die bei der Lagerung entstehen, zu vermeiden.

**QUALITÄTSKONTROLLE UND FEHLERSUCHE**

Mit dem Latex Nachweisreagenz werden die positive und die negative Kontrolle angesetzt. Parallel werden die positive Kontrolle, die negative Kontrolle und die Antikörperkontrolle mit dem Latex Kontrollreagenz getestet, wobei die positive und negative Kontrolle keine Agglutination zeigen und die Antikörperkontrolle positiv reagiert.

Ergibt sich nicht das erwartete Ergebnis, so ist der jeweilige Test ungültig und muss wiederholt werden.

Verklumptes Latex Nachweisreagenz (verfallen, ausgetrocknet, eingefroren) darf nicht mehr verwendet werden.

**TESTDURCHFÜHRUNG**

Alle Testkomponenten sind gebrauchsfertig, sobald sie sich auf Raumtemperatur erwärmt haben (ca. 5 min). Bitte dabei Sonne und Heizungsnähe meiden. Die Reagenzien sind im Test unverdünnt zu benutzen. Alle Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig schütteln.

Pro Testtag muss ein Kontrollansatz durchgeführt werden. Achtung: die Kontrollen müssen nicht auf jeder Testkarte mit jeder Patientenprobe mitlaufen. Auf der Testkarte werden die Reaktionsfelder, die für die Proben bzw. für die verschiedenen Kontrollen vorgesehen sind, markiert. Für den Kontrollansatz werden 2 Felder für die positive Kontrolle, 2 Felder für die negative Kontrolle und 1 Feld für die Antikörperkontrolle benötigt. Die positive und negative Kontrolle werden sowohl mit dem Latex Nachweisreagenz als auch mit dem Latex Kontrollreagenz, die Antikörperkontrolle wird nur mit dem Latex Kontrollreagenz getestet. Für die Proben werden jeweils 2 Felder benötigt, da jede Probe mit dem Latex Nachweisreagenz und dem Latex Kontrollreagenz getestet werden muss.

- In jeden der beiden für die positive Kontrolle vorgesehenen Testfelder einen freifallenden Tropfen Kontrolle geben. Dabei muss das Tropffläschchen senkrecht gehalten werden, damit die richtige Tropfengröße gewährleistet ist.
- Je 25 µl der Antikörperkontrolle und der negativen Kontrolle in die jeweiligen Ringe geben.
- Je 25 µl Patientenprobe in jede der beiden vorgesehenen Ringe geben.
- Zu jeweils einem Feld der positiven Kontrolle, der negativen Kontrolle und der Proben wird je ein freifallender Tropfen Latex Nachweisreagenz gegeben.
- Zu dem jeweils zweiten Feld der positiven Kontrolle, der negativen Kontrolle, der Proben und dem Feld der Antikörperkontrolle wird je ein freifallender Tropfen Latex Kontrollreagenz gegeben.
- Jedes Feld mit einem Plastikspatel gut durchmischen. Für jede Probe und jede Kontrolle einen eigenen Spatel benutzen.
- Die Testkarte per Hand oder mit einem Schwenkschüttler (125 ± 25 rpm) ca. 5 min vorsichtig schwenken.
- Test nach ca. 5 min ablesen. Das Ablesen muss sofort erfolgen, da sonst z.B. durch Austrocknen bei langem Liegen falsche Ergebnisse erhalten werden können. Es empfiehlt sich, die Platte direkt unter einer Leuchtstofflampe abzulesen und gemäß einer Skala von negativ bis 4+ einzustufen. Nach dem Gebrauch geben Sie bitte das Latexreagenz und die Kontrollen sofort wieder in den Kühlschrank zurück.

**BEWERTUNG UND INTERPRETATION****Positiv:**

Eine Agglutination der positiven Kontrolle oder von Patientenproben innerhalb der vorgegebenen Zeit zeigt die Anwesenheit von spezifischen Antigenen gegen die auf den Latexartikeln befindlichen Antikörper an. Der Test ist positiv.

Die positive Kontrolle ist so eingestellt, dass sie innerhalb der vorgegebenen Zeit eine deutliche Agglutination ergibt.

**Negativ:**

Eine gleichmäßig milchig-trübe Suspension der Kontrolle oder der Patientenproben nach Ablauf der vorgegebenen Inkubationszeit ist als negativ zu beurteilen.

**LITERATUR**

Singer J.M., Plotz C.M.: The Latex Fixation Test. I. Application to the Serologic Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. Am. J. Med. 21, 1956, 888-892