

IVD

Gebrauchsanweisung (Deutsch)

1 Zweckbestimmung

Der *recomLine Bordetella pertussis* ist ein qualitativer *in-vitro*-Test zum Nachweis von IgG- bzw. IgA-Antikörpern gegen Antigene von *Bordetella pertussis* in humanem Serum und Plasma.

2 Anwendungsbereich

Der *recomLine Bordetella pertussis* bietet die Möglichkeit, fragliche ELISA-Befunde abzuklären und positive ELISA-Befunde zu bestätigen. Die in diesem Test verwendeten Proteine sind immundominante Antigene, deren Antikörperreaktionen Rückschlüsse auf den Infektionsstatus ermöglichen.

3 Testprinzip

Hochgereinigte rekombinante *Bordetella pertussis* Antigene (filamentöses Hämagglutinin (FHA) und das Gesamtoxin (PT) in zwei Konzentrationen) sind auf Nitrozellulose-Membran Teststreifen fixiert.

- Die Teststreifen werden mit der verdünnten Serum- oder Plasma-probe inkubiert, wobei sich spezifische Antikörper an die Erreger-Antigene auf den Teststreifen anlagern.
- Nicht gebundene Antikörper werden anschließend gewaschen.
- Die Streifen werden in einem zweiten Schritt mit anti-human-Immunglobulin Antikörpern (IgG bzw. IgA) inkubiert, die mit Meerrettich-Peroxidase gekoppelt sind.
- Nicht gebundene Konjugat-Antikörper werden anschließend gewaschen.
- Mit einer durch die Peroxidase katalysierten Färbereaktion werden spezifisch gebundene Antikörper nachgewiesen. Falls eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat, erscheint an der entsprechenden Stelle eine dunkle Bande auf dem Streifen.

Am oberen Ende der Teststreifen befinden sich Kontrollbänder:

- Die Reaktionskontrolle unter der Streifennummer, die bei jeder Serum/Plasma-Probe eine Reaktion zeigen muss.
- Die Konjugatkontrollen (IgG, IgA) dienen zur Kontrolle der nachgewiesenen Antikörperklasse. Wird z.B. der Teststreifen zum Nachweis von IgG-Antikörpern benutzt, zeigt die Konjugatkontrollbande IgG eine deutliche Bande.
- „Cutoff-Kontrolle“: Die Intensität dieser Bande erlaubt die Beurteilung der Reaktivität der einzelnen Antigen-Banden (siehe 9.2. Auswertung).

4 Reagenzien

4.1 Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 20 (100) Bestimmungen. Jeder Reagenziensatz enthält:

WASHBÜFA 10 X	100 ml (5x100 ml) Waschpuffer A (zehnfach konzentriert) Enthält Phosphat-Puffer, NaCl, KCl, Detergenz, Konservierungsmittel: MIT (0,1%) und Oxypropion (0,2%)
SUBS TMB	40 ml (5x40 ml) Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin (TMB, gebrauchsfertig)
MILKPOW	5 g (5x5 g) Magermilchpulver
INSTRU	1 Gebrauchsanweisung
EVALFORM	1 (5) Auswertebogen

4.1.1 recomLine Bordetella pertussis IgG

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 4.1 aufgeführten Komponenten:

TESTSTR	2 (10) Röhrchen mit je 10 durchnummerierten Teststreifen
CONJ IgG	500 µl (5x500 µl) Anti-human IgG Konjugat (hundertfach konzentriert, Grüne Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) und Chlorazetamid (<0,1%)

4.1.2 recomLine Bordetella pertussis IgA

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 4.1 aufgeführten Komponenten:

TESTSTR	2 (10) Röhrchen mit je 10 durchnummerierten Teststreifen
CONJ IgA	500 µl (5x500 µl) Anti-human IgA Konjugat (hundertfach konzentriert, Farblose Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält NaN ₃ (<0,1%), MIT (<0,1%) und Chlorazetamid (<0,1%)

4.2 Zusätzlich benötigte Reagenzien, Materialien und Geräte

- Inkubationsschalen (sind bei Bedarf von MIKROGEN zu beziehen)
- Deionisiertes Wasser (hohe Qualität)
- Plastikpinzette
- Horizontalschüttler
- Vortex-Mixer oder andere Rotatoren
- Vakuumpumpe oder entsprechendes Gerät
- Messzylinder, 50 ml und 1000 ml
- Mikropipetten mit Einwegspitzen, 20 µl und 1000 µl
- 10 ml Pipette oder Dispenser
- Timer
- Saugfähige Papiertücher
- Einweg-Schutzhandschuhe
- Abfallbehälter für Biogefahrstoffe

5 Haltbarkeitsdauer und Handhabung

- Reagenzien vor und nach Gebrauch bei +2°C - +8°C lagern, **nicht einfrieren**.
- Vor Testbeginn alle Bestandteile für mindestens 30 Minuten auf Raumtemperatur (+18°C - +25°C) temperieren. Die Testdurchführung erfolgt bei Raumtemperatur.
- Gleiche Reagenzien (siehe Symbol-Aufdruck) verschiedener *recomLine*- und *recomBlot*-Teste können parameter- und chargenübergreifend eingesetzt werden. Dabei ist die Haltbarkeit dieser Komponenten zu beachten.
- Vor Gebrauch die konzentrierten Reagenzien und Patientenserum gut durchmischen. Schaumbildung vermeiden.
- Röhrchen mit den Teststreifen erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen, um Kondenswasserbildung zu vermeiden. Nicht benötigte Streifen verbleiben im Röhrchen und werden weiterhin bei +2°C - +8°C gelagert (Röhrchen wieder gut verschließen, Teststreifen dürfen vor Versuchsbeginn nicht feucht werden!).
- Die Streifen sind mit der fortlaufenden Nummer, sowie dem Testkürzel gekennzeichnet.
- Die Packungen tragen ein Verfallsdatum, nach dessen Erreichen keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden kann.
- Kitkomponenten während der gesamten Testdurchführung vor direktem Sonnenlicht schützen. Insbesondere die Substratlösung (TMB) ist lichtempfindlich.
- Der Test ist nur von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchzuführen.
- Bei substantiellen Änderungen am Produkt, bzw. der Anwendungsvorschrift durch den Anwender, kann die Anwendung außerhalb der von MIKROGEN vorgegebenen Zweckbestimmung liegen.
- Kreuzkontamination der Patientenproben oder Konjugate kann zu falschen Testergebnissen führen. Fügen Sie Patientenproben, Teststreifen und Konjugat-Lösung sorgfältig zu. Achten Sie darauf, dass Inkubationslösungen nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden. Flüssigkeiten vorsichtig entfernen.
- Die Streifen müssen während der gesamten Prozedur vollständig benetzt und untergetaucht sein.
- Automatisierung ist möglich, nähere Informationen erhalten Sie von MIKROGEN.

6 Warnungen und Sicherheitsvorkehrungen

- Nur für die *In-vitro*-Diagnostik verwenden.
- Sämtliche Blutprodukte müssen als potenziell infektiös behandelt werden.
- Die Teststreifen wurden mit inaktivierten bakteriellen oder viralen Antigenen hergestellt.

- ☞ Nach der Zugabe von Patienten- oder Kontrollmaterial muss der Streifen als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend als solches behandelt werden.
- ☞ Während des gesamten Testverfahrens müssen geeignete Einweg-Handschuhe getragen werden.
- ☞ Die Reagenzien enthalten die antimikrobiellen Mittel und Konservierungsstoffe Natriumazid, MIT (Methylisothiazolon), Oxypyron, Chlorazetamid und Wasserstoffperoxid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Natriumazid kann bei Kontakt mit Schwermetallen wie Kupfer und Blei explosive Azide formen.
- ☞ Alle abgesehenen Flüssigkeiten müssen gesammelt werden. Alle Sammelbehälter müssen geeignete Desinfektionsmittel zur Inaktivierung humanpathogener Erreger enthalten. Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder entsprechend Ihren Hygienevorschriften entsorgt werden. Die Konzentrationsangaben und Inkubationszeiten der Hersteller müssen beachtet werden.
- ☞ Inkubationsschalen nur einmal verwenden.
- ☞ Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette handhaben.
- ☞ Ersetzen oder mischen Sie die Reagenzien nicht mit Reagenzien anderer Hersteller.
- ☞ Vor Durchführung des Tests die gesamte Gebrauchsanweisung durchlesen und sorgfältig befolgen. Abweichungen vom in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Testprotokoll können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

7 Probenentnahme und Reagenzien-Vorbereitung

7.1 Probenmaterial

Das Probenmaterial kann Serum oder Plasma (EDTA, Citrat, Heparin, CPD) sein, das nach Entnahme möglichst rasch vom Blutkuchen getrennt werden muss, um eine Hämolyse zu vermeiden. Eine mikrobielle Kontamination der Probe ist unbedingt zu vermeiden. Unlösliche Stoffe sind vor der Inkubation aus der Probe zu entfernen. Die Verwendung von hitzeinaktivierten, ikterischen, hämolytischen, lipämischen oder trüben Proben wird nicht empfohlen.

Achtung!

Sollen die Bestimmungen nicht sofort erfolgen, kann das Probenmaterial bis zu 2 Wochen bei +2 °C - +8 °C aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Proben ist durch Aufbewahrung bei -20 °C oder tiefer möglich. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben wird wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate nicht empfohlen.

7.2 Herstellung der Lösungen

7.2.1 Herstellung des gebrauchsfertigen Waschpuffers A

Dieser Puffer wird für die Serum- und Konjugatverdünnung sowie die Waschschrte benötigt.

Vor dem Verdünnen ist das Volumen des Waschpuffers A für die entsprechende Anzahl der durchzuführenden Tests zu bestimmen. Das Magermilchpulver wird zuerst in Waschpuffer A-Konzentrat vorgelegt und diese Mischung dann mit deionisiertem Wasser auf das Endvolumen aufgefüllt (Verdünnung: 1 + 9). Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln (Gerätespezifisches Totvolumen ist nicht berücksichtigt):

Reagenz	Formel	Beispiel: 5 Streifen
Magermilchpulver [g]	= Streifen-Anzahl x 0,1	0,5 g
Waschpuffer A-Konzentrat [ml]	= Streifen-Anzahl x 2	10 ml
Deionisiertes Wasser [ml]	= Streifen-Anzahl x 18	90 ml
Gebrauchsfertiger Waschpuffer A [ml]	= Streifen-Anzahl x 20	100 ml

Gebrauchsfertiger Waschpuffer A kann bei 2 °C - +8 °C vier Wochen gelagert werden. Der gebrauchsfertige Waschpuffer A ist geruchlos und leicht getrübt.

7.2.2 Herstellung der Konjugatlösungen

Die Konjugatlösung ist kurz vor Gebrauch herzustellen, eine Lagerung der gebrauchsfertigen Konjugatlösung ist nicht möglich.

Ein Teil des Konjugat-Konzentrats wird mit 100 Teilen gebrauchsfertigem Waschpuffer A verdünnt (1 + 100).

Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln:

Reagenz	Formel	Beispiel: 5 Streifen
Konjugat-Konzentrat [µl]	= Streifen-Anzahl x 20	100 µl
Gebrauchsfertiger Waschpuffer A [ml]	= Streifen-Anzahl x 2	10 ml

Die Konjugatmengen sind ohne Totvolumen berechnet. Je nach Abarbeitung (manuell bzw. an einem Gerät) bitte zusätzliche Konjugatlösung für 1 bis 3 Streifen ansetzen.

8 Testverfahren

Nr.	Durchführung	Anmerkung
1	Alle Reagenzien vor Testbeginn für mindestens 30 Minuten auf 18°C - 25°C (Raumtemperatur) temperieren.	Die Testdurchführung erfolgt bei Raumtemperatur.
2	<u>Teststreifen vorbereiten</u> Streifen in 2 ml gebrauchsfertigem Waschpuffer A einlegen.	Die Streifen nicht mit bloßen Händen anfassen – Pinzette verwenden. Die Streifennummer zeigt nach oben. Für jeden Streifen wird eine Vertiefung in einer Inkubationsschale (siehe 0) benötigt. Die Streifen müssen komplett untergetaucht sein.
3	<u>Probeninkubation</u> a) 20 µl einer unverdünnten Probe (Humanserum oder Plasma) werden je Inkubationsansatz zum Teststreifen pipettiert. (Verdünnung 1 + 100) b) 1 Stunde unter leichtem Schütteln inkubieren	Probe an einem Ende des untergetauchten Streifens in den Waschpuffer A pipettieren und schnellstmöglich durch vorsichtiges Schütteln der Inkubationsschale mischen. Inkubationsschale mit Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen.
4	<u>Waschen</u> a) Kunststoffdeckel vorsichtig von den Inkubationsschalen abnehmen. b) Serumverdünnung vorsichtig aus den einzelnen Vertiefungen absaugen. c) 2 ml gebrauchsfertigen Waschpuffer A in jede Vertiefung pipettieren, für 5 Minuten unter leichtem Schütteln waschen und anschließend den Waschpuffer A absaugen.	Waschschrte 8.4a-8.4c insgesamt <u>dreimal</u> durchführen. Kreuzkontamination vermeiden Bei maschineller Abarbeitung sind diesbezüglich die Hinweise des Geräteherstellers zu beachten.
5	<u>Inkubation mit Konjugat</u> 2 ml gebrauchsfertige Konjugatlösung zugeben und 45 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren.	Inkubationsschale mit dem Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen.
6	<u>Waschen</u> siehe unter 8.4	Waschschrte insgesamt <u>dreimal</u> durchführen (siehe 8.4a-8.4c)
7	<u>Substratreaktion</u> 1,5 ml der Substratlösung zugeben und 8 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren.	
8	<u>Abstoppen der Reaktion</u> Substratlösung entfernen Mindestens dreimal kurz mit deionisiertem Wasser waschen.	
9	<u>Trocknen der Streifen</u> Streifen vor der Auswertung 2 Stunden zwischen 2 Lagen saugfähigen Papieren trocknen.	Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette aus dem Wasser nehmen. Streifen vor Licht geschützt aufbewahren.
Achtung! Inkubationslösungen dürfen nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden. Insbesondere beim Öffnen und Schließen des Deckels sind Spritzer zu vermeiden.		

9 Ergebnisse

Achtung:

Verwenden Sie nicht die automatisierte Interpretation ohne die unten beschriebenen Hinweise zur Interpretation zu beachten.

9.1 Validierung – Qualitätskontrolle

Eine Auswertung des Tests kann erfolgen, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

1. Reaktionskontroll-Bande (oberste Linie) deutlich gefärbt, dunkle Bande
2. Antikörperklasse (zweite und dritte Bande): die IgG- bzw. IgA-Konjugatkontrollbande muss eine deutliche Färbung zeigen. Die jeweils andere Konjugatkontrollbande kann eine schwache, unspezifische Färbung entwickeln.
3. Cutoff-Kontrolle (vierte Bande): schwache, aber sichtbare Färbung

9.2 Auswertung

Die Auswertung der Teststreifen kann visuell oder computergestützt - mit der Teststreifenauswertungs-Software recomScan - erfolgen. Die recomScan-Software ist zur Unterstützung der Teststreifen-Interpretation bestimmt. Weitere Informationen und entsprechende Anleitungen zur computergestützten Auswertung erhalten Sie auf Anfrage bei MIKROGEN. Die nachfolgende Anleitung bezieht sich auf die visuelle Auswertung.

9.2.1 Bewertung der Bandenintensität

- Notieren Sie im beigefügten Auswertebogen Datum und Chargennummer, sowie die detektierte Antikörperklasse.
- Tragen Sie die Proben-Identifizierungs-Nummern in den Auswertebogen ein.
- Kleben Sie nun mit einem Klebestift die dazugehörigen Teststreifen in die entsprechenden Felder des Auswertebogens. Richten Sie dazu die Teststreifen mit der Reaktionskontroll-Bande an der eingezeichneten Markierungslinie aus. Kleben Sie dann mit einem durchsichtigen Klebeband die Teststreifen links von der Markierungslinie an (Reaktionskontroll-Bande nicht überkleben!). Flüssiges Ankleben der ganzen Teststreifen mit Klebestift oder Klebeband kann zu Veränderungen der Färbung führen.
- Identifizieren Sie nun die Banden der entwickelten Teststreifen anhand des aufgedruckten Kontrollstreifens des Auswertebogens und tragen diese in den Auswertebogen ein. Nehmen Sie dazu anhand der Tabelle 1 die Bewertung der Intensität der auftretenden Banden gesondert für die entsprechenden Immunglobulin-Klassen vor.

Tabelle 1: Bewertung der Bandenintensität im Bezug zur Cutoff-Bande

Farbintensität der Banden	Bewertung
Keine Reaktion	-
Sehr schwache Intensität (geringer als Cutoff-Bande)	+/-
Schwache Intensität (entspricht Cutoff-Bande)	+
Starke Intensität (stärker als Cutoff-Bande)	++
Sehr starke Intensität	+++

Achtung !

Die Bandenmuster beim recomLine Bordetella pertussis IgG- und IgA-Nachweis können unterschiedliche Intensitäten aufweisen. Es ist möglich, dass der recomLine Bordetella pertussis IgG kräftigere und dunklere Banden als der recomLine Bordetella pertussis IgA zeigt. Die Intensität der Proteinbanden ist abhängig von der Konzentration der Bordetella-spezifischen Antikörper.

9.3 Interpretation der Testergebnisse

Für die Beurteilung des Bordetella-pertussis-Immunstatus sollten die Ergebnisse des IgG- und IgA-Nachweises zusammen betrachtet werden (siehe Tabelle 3). Für FHA und PT gelten in den beiden Antikörperklassen IgG und IgA dieselben Interpretationskriterien (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Bewertung der Bordetella-pertussis-Antigene

Antigen	Intensität	Bewertung IgG, IgA
FHA/PT/PT-100	geringer als „1+“ Cutoff-Bande	negativ
FHA/PT/PT-100	gleich stark wie oder stärker als „1+“ Cutoff-Bande	positiv

Testinterpretation anhand von filamentösem Hämagglutinin (FHA):

Liegen Antikörper gegen Pertussis-Toxin vor (IgG und/oder IgA), spielen zusätzlich vorhandene Antikörper gegen FHA (IgG und/oder IgA) für die Befundung keine Rolle (siehe Tabelle 3). Antikörper gegen FHA werden nur dann bewertet, wenn sie isoliert (ohne Antikörper gegen PT) auftreten.

Ist ausschließlich FHA (IgG und/oder IgA) positiv, kann dies auf verschiedene Konstellationen hinweisen:

A: FHA liefert einen Hinweis auf eine Infektion mit einer der Bordetella-Spezies (z. B. Bordetella parapertussis u. a.) unter Berücksichtigung von Kreuzreaktivitäten mit anderen Bakterien.

B: Ein sehr frühes Stadium einer Bordetella-pertussis-Infektion kann nicht ausgeschlossen werden. Besteht der klinische Verdacht weiter, sollte eine Verlaufskontrolle nach ca. 2 Wochen durchgeführt werden (zusätzliches Auftreten von Antikörpern gegen PT). FHA kommt in verschiedenen Bordetella-Spezies (nicht nur Bordetella pertussis) vor und ist kreuzreaktiv.

Bei der Interpretation der serologischen Ergebnisse ist es unerlässlich, die Anamnese, die klinischen Symptome und zusätzlich verfügbare Labordaten mit in die Gesamtbefundung einzubeziehen.

Tabelle 3: Interpretation der Bordetella-pertussis-Antigene

Testinterpretation anhand von Pertussis-Toxin (PT): Pertussis-Toxin ist ein spezifischer Marker für eine Bordetella-pertussis-Infektion.			
PT-100: standardisiert mittels des WHO-Standards. Seren mit einer positiven IgG-Reaktivität gegen die PT-100-Bande haben einen IgG-Titer über 100 IU/ml WHO-Standard → Hinweis auf eine akute Infektion (sofern nicht eine Impfung innerhalb der letzten drei Jahre erfolgte).			
IgG PT-100	IgG PT	IgA PT	Interpretation
+	+	+	IgG- und IgA*-Antikörper gegen Bordetella pertussis nachweisbar. Hinweis auf eine akute Bordetella pertussis Infektion.
+	+	-	IgG-Antikörper gegen Bordetella pertussis vorhanden. Hinweis auf eine akute Bordetella-pertussis-Infektion. Es kann sich auch um einen Titer nach kürzlich erfolgter Impfung handeln (innerhalb der letzten drei Jahre).
-	+	+	IgG- und IgA*-Antikörper gegen Bordetella pertussis nachweisbar. Akute Infektion mit Bordetella pertussis möglich. Verlaufskontrolle nach ca. 2 Wochen empfohlen (Titeranstieg).
-	-	+	IgA*-Antikörper gegen Bordetella pertussis nachweisbar. Frühstadium einer akuten Infektion mit Bordetella pertussis möglich. Verlaufskontrolle nach ca. 2 Wochen empfohlen (Titeranstieg im IgA, Serokonversion im IgG).
-	+	-	IgG-Antikörper gegen Bordetella pertussis nachweisbar. Hinweis auf eine zurückliegende Bordetella pertussis Infektion/Impfung. Ein sehr frühes Infektionsstadium kann nicht ausgeschlossen werden. Besteht der klinische Verdacht weiter, sollte eine Verlaufskontrolle nach ca. 2 Wochen durchgeführt werden.
-	-	-	Kein Hinweis auf eine Bordetella pertussis Infektion/Impfung. Besteht der klinische Verdacht weiter, sollte eine Verlaufskontrolle nach ca. 2 Wochen durchgeführt werden.

*IgA-Antikörper treten nach einer Impfung nur selten auf

10 Grenzen der Methode, Einschränkungen

- Serologische Testergebnisse sind immer in Zusammenhang mit dem klinischen Bild zu sehen. Therapeutische Konsequenzen der serologischen Befundung sind im Zusammenhang mit den klinischen Daten zu ziehen.
- Für die Beurteilung des Bordetella-pertussis-Immunstatus sollten immer die Ergebnisse des IgG- und IgA-Nachweises zusammen betrachtet werden.
- Proben mit unklaren Ergebnissen sollten in Abhängigkeit von der klinischen Situation nach ca. 2 Wochen kontrolliert werden.
- IgG-Antikörper treten nach einer Primärinfektion mit Bordetella pertussis frühestens 2 - 3 Wochen nach Krankheitsbeginn auf und erreichen nach ca. 8 Wochen ihr Maximum. IgA-Antikörper sind bereits nach 1 - 2 Wochen messbar. Eine Pertussis-Infektion im Frühstadium kann infolgedessen einen isolierten positiven IgA-Befund aufweisen. Während IgA-Antikörper nach einer Infektion häufig nicht länger als 6 Monate nachweisbar sind, können IgG-Antikörper über Jahre persistieren. Der alleinige Nachweis spezifischer IgG-Antikörper ist mit einer früheren Pertussis-Infektion, aber auch mit einem Status nach Pertussis-Impfung vereinbar.
- Da nach einer Impfung in der Regel kein IgA gebildet wird, gilt der Nachweis von spezifischen IgA-Antikörpern als Hinweis auf eine frische Infektion. Allerdings ist zu beachten, dass IgA bei Säuglingen in den ersten 6 Monaten nur selten bzw. in geringer Konzentration nachweisbar ist.
- Antikörper gegen Bordetella pertussis werden auch bei nicht geimpften Jugendlichen und Erwachsenen gefunden. Es wird vermutet, dass wiederholte subklinische Infektionen dafür verantwortlich sind.
- Ein negatives Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Bordetellen-Infektion nicht grundsätzlich aus. Falsch negative Ergebnisse können auftreten, wenn die Probeabnahme vor der initialen Reaktion des Immunsystems erfolgte.
- Dunkle Teststreifen:** Manche Patientenproben können auf dem gesamten Nitrozellulose-Streifen eine dunkle, durchgängige oder gemusterte Färbung erzeugen. Hierfür sind unterschiedliche Faktoren aus dem jeweiligen Patientenserum verantwortlich. Die Auswertung dieser Streifen ist in der Regel nur mit Einschränkungen möglich. So sind z.B. "inverse" Banden (weiße Banden auf dunklem Hintergrund) als negativ zu werten. Das entsprechende Serum sollte in jedem Fall mittels anderer serologischer Methoden überprüft werden.

11 Leistungsmerkmale

11.1 Sensitivität

Es wurden 43 Patienten-Seren getestet. Bei allen Patienten war aufgrund der klinischen Symptomatik sowie eines IgG- und IgA-positiven ELISA-Befundes gegen Pertussis-Toxin die Diagnose einer akuten Infektion mit *Bordetella pertussis* gestellt worden

	FHA IgG	FHA IgA	PT-100 IgG	PT IgA
positiv	42 (97,6 %)	39 (90,6 %)	42 (97,6 %)	18 (41,9 %)
negativ	1 (2,3 %)	4 (9,4 %)	1 (2,3 %)	25 (58,1 %)
Summe	43 (100 %)	43 (100 %)	43 (100 %)	43 (100 %)

11.2 Spezifität

Die Spezifität bezieht sich auf die Daten der gesunden Blutspender (siehe 11.3), wobei ein Vergleichs-Line-Assay zur Definition der seronegativen Blutspender herangezogen wurde. Sie beträgt 100%.

11.3 Durchseuchungsrate

Es wurden 100 Plasmen von gesunden, nicht selektierten Blutspendern im *recomLine Bordetella pertussis* getestet.

	FHA positiv	PT-100 positiv	PT positiv
IgG	48 %	3 %	18 %
IgA	23 %	---	0 %

11.4 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität wird definiert als die Kapazität des Tests, den Analyten genau zu bestimmen bei Vorhandensein von potentiellen Interferenz-Faktoren in der Proben-Matrix oder Kreuzreaktionen mit potentiell interferierenden Antikörpern.

a) **Interferenzen:** Kontrollstudien über potentiell interferierende Faktoren haben gezeigt, dass die Leistungen des Tests nicht durch Hämolyse, Bilirubinämie oder Lipämie der Probe beeinflusst werden.

b) **Kreuzreaktionen:** Es wurden potentiell interferierende Proben (Autoimmunerkrankungen, frische EBV-Infektionen, Rheumafaktor-positive, und Proben von Schwangeren) getestet.

Bei fünf von 70 unter a) und b) zusammengefassten Seren wurde eine positive PT-100-Reaktivität beobachtet. Zwei dieser fünf Proben wurden in zwei kommerziell erhältlichen *Bordetella pertussis*-Testen überprüft. Die positive PT-100-Reaktivität wurde für beide Seren bestätigt, so dass hier von einer echten Pertussis-Infektion ausgegangen werden kann. Kreuzreaktionen konnten hier ausgeschlossen werden.

12 Literatur

- Wirsing von König C. H., Halperin S., Riffelmann M., Guiso N.: Pertussis of adults and infants, THE LANCET Infectious Diseases, 2, 2002, 744-750
- Robert Koch-Institut: Empfehlungen der Ständigen Impfkommission (STIKO) am Robert Koch-Institut, Epid Bull 2009;30.
- Meade B.D., Mink C. M., Manclark C.R.: Serodiagnosis of Pertussis, Center for Biologics and Research, Food and Drug Administration, Bethesda, Maryland 20892, 1994
- Müller F.-M., Hoppe J., Wirsing von König C. H.: Laboratory Diagnosis of Pertussis: State of the Art in 1997, J. Clin. Microbiology, 35, (10), 1997, 2435-2443
- Wichtelhaus Thomas A., Hunfeld Klaus-Peter, Brade Volker: Chapt. 42.13 Pertussis, In: Labor und Diagnose (Hrsg. Thomas, L.), 6. Auflage, Frankfurt/Main, TH-Books-Verlags-Gesellschaft, 2005, 1627-1629
- Rapp J., Enders G.: Diagnostische Verfahren zum Nachweis einer Pertussis-Infektion, Ärztl. Lab., 3, 1988, 181-189
- Wendelboe A.M., Van Rie A., Diagnosis of pertussis: a historical review and recent developments, Expert Rev. Mol. Diagn. 6(6), 2006, 857-864
- Korppi M., Hiltunen J.: Pertussis is common in Nonvaccinated Infants Hospitalized for Respiratory Syncytial Virus Infection, The Pediatric Infectious Disease Journal, 26(4), 2007, 316-318
- Cosnes-Lambe C., Raymond J., Chalumeau M., Pons-Catalano C., Moulin F., Suremain ND., Reglier-Poupet H., Lebon P., Poyart C., Gendrel D.: Pertussis and respiratory syncytial virus infections, Eur J Pediatr., November 2007, 23.
- Riffelmann M., Littmann M., Hellenbrand., Hülße W., Wirsing von König C.H.: „Pertussis – nicht nur eine Kinderkrankheit“ – Übersichtsarbeit, 2008, Deutsches Ärzteblatt, 105 (37), 623 – 628

Auf Anforderung senden wir Ihnen gerne weiterführende Literatur zur Bordetella-Diagnostik zu.

13 Erläuterung der Symbole

	Inhalt ist ausreichend für <n> Ansätze Anzahl der Ansätze
EVALFORM	Auswertebogen
INSTRU	Gebrauchsanweisung
	Gebrauchsanweisung beachten
CONT	Inhalt, enthält
IVD	In vitro Test
LOT	Chargen-/Versionsnummer
	Nicht einfrieren
REF	Bestell-Nummer
	Verwendbar bis Verfallsdatum
	Lagerung bei x°C bis y°C
	Hersteller

14 Hersteller- und Versionsdaten

<i>recomLine Bordetella pertussis IgG</i>	Artikel-Nr. 5772 (5770)
<i>recomLine Bordetella pertussis IgA</i>	Artikel-Nr. 5773 (5779)
Gebrauchsanweisung gültig ab	GARLBP006D 2023-03
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Germany Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-Mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de



GARLBP006