

## Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit

Stripe-Immunoblot zum qualitativen Nachweis von **IgA** Antikörpern gegen spezifische plasmid-codierte sekretorische Proteine pathogener **Yersinia species** (z.B. *Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*) Stämme in humanem Serum im Rahmen der Arthritis Diagnostik. Unter Verwendung eines Anti-Human IgM Konjugates können mit dem Yersinia ViraStripe® IgA auch spezifische **IgM** Antikörper nachgewiesen werden.

Der **Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit** ist ein Immunoblot auf Basis eines Enzym-Immunoassays im Line/Stripe Format, bei dem folgende aufgereinigte Yersinia-spezifische Antigene verwendet werden: **YopH, YopM, YopB, LcrV, YopD, YopN** und **YopE** (23).

### Testprinzip

Yersinia-spezifische IgA bzw. IgM Antikörper binden während der Seruminkubation an das fixierte Antigen auf dem Teststreifen. Während der Konjugatreaktion bindet das AP-Konjugat an den Antigen-Antikörper-Komplex. Die Alkalische Phosphatase setzt das Chromogen/Substrat um und färbt damit den Antigen-Antikörper-Komplex auf dem Teststreifen lila an. Die Waschschrte nach der Seruminkubation, der Konjugatinkubation und der Chromogen/Substrat-Inkubation entfernen ungebundene Antikörper und Reagenzien.

Die grüne Trennlinie teilt den Teststreifen in einen Kontrollabschnitt und einen Analytabschnitt. Im Kontrollabschnitt befinden sich die **Negativkontrollbande**, die **Serumkontrolle**, **drei Konjugatkontrollen** (IgG, IgA, IgM) und die **Cut off Kontrolle**.

Der Teststreifencode für die Yersinia ViraStripe® IgA bzw. IgM Teststreifen ist **YN**. Die Teststreifen sind von **01** bis **50** nummeriert. Im Analytabschnitt befinden sich die Yersinia-spezifischen Antigene.

Best.-Nr.:	<b>V-YSSAOK</b>	Best.-Nr.:	<b>V-YSSADK (Deca Kit)</b>
Packungsgröße:	<b>1x 50 Teststreifen</b>	Packungsgröße:	<b>10x 50 Teststreifen</b>
Probenmaterial:	<b>20 µl Serum</b>	Probenmaterial:	<b>20 µl Serum</b>
Testdauer:	<b>ca. 90 Minuten</b>	Testdauer:	<b>ca. 90 Minuten</b>

### Kitinhalt

1x bzw. 10x 50 Teststreifen	<b>Yersinia ViraStripe® Antigen Strips (IgA, IgM)</b> Teststreifen mit Kontrollabschnitt und Yersinia-spezifischen Antigenen im Analytabschnitt, gebrauchsfertig	(Prod.-Nr.: V-YSSNAS)
1x bzw. 10x 9 ml	<b>ViraStripe® / ViraBlot® AP-Anti-Human IgA Conjugate</b> Konjugat-Konzentrat, Ziege	(Best.-Nr.: V-UVNAKI)
1x bzw. 10x 100 ml	<b>ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Buffer</b> Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach	(Best.-Nr.: V-UVNUWP)
1x bzw. 10x 5 g	<b>ViraStripe® / ViraBlot® Diluent / Wash Powder</b> Proben-/Waschpuffersalz	(Best.-Nr.: V-UVNUMP)
1x bzw. 10x 90 ml	<b>ViraStripe® / ViraBlot® Chromogen / Substrate Solution</b> Chromogen/Substratlösung, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-UVNUCS)
1 bzw. 10 Exemplare	<b>Auswerteprotokolle Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit</b>	

### Zusätzlich separat lieferbar

330 µl	<b>Yersinia ViraStripe® IgA Positive Control</b> IgA positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-YSSAPK)
330 µl	<b>Yersinia ViraStripe® IgM Positive Control</b> IgM positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-YSSMPK)
330 µl	<b>Yersinia ViraStripe® IgG,A,M Negative Control</b> IgG, IgA, IgM negatives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig	(Best.-Nr.: V-YSSPNK)
9 ml	<b>ViraStripe® / ViraBlot® AP-Anti-Human IgM Conjugate</b> Konjugat-Konzentrat, Ziege	(Best.-Nr.: V-UVNMKI)
50 Exemplare	<b>Yersinia ViraStripe® IgG, IgM, IgA Auswerteprotokolle</b> für die automatisierte Auswertung mit der ViraScan® Software	(Best.-Nr.: V-YSSUEP)

### Vorbereiten der Reagenzien und der Patientenproben

**Alle Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (20-25°C) bringen.** Informationen zur Haltbarkeit finden Sie auf Seite 6.

**Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** **Proben-/Waschpuffer-Konzentrat 1:10** in destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen (100 ml Konzentrat + 900 ml Wasser). Anschließend Proben-/Waschpuffersalz komplett zugeben und solange mischen, bis sich das Pulver vollständig aufgelöst hat. Eventuell 10-15 Minuten auf einen Magnetührer stellen. Der pH-Wert sollte um pH 7,5 bei 20°C liegen.

**Teststreifen:** Benötigte Teststreifen vorsichtig mit der **Pinzette** an der **Beschriftung** fassen, vom Steg lösen und in die vorbereitete Inkubationswanne legen (Arbeitsvorschrift Punkt 2). Nach Entnahme aus der Verpackung sofort verwenden. Teststreifen nicht mit den Fingern berühren. Nicht benötigte Teststreifen sofort wieder in die Originalverpackung zurückgeben, dicht verschließen und bei 2-8°C lagern.

**Patientenproben:** Pro Ansatz werden **20 µl Patientenserum** unverdünnt eingesetzt.

**Kontrollen:** Pro Ansatz werden je **100 µl des positiven Kontrollserums** sowie des **negativen Kontrollserums** unverdünnt eingesetzt.

**Konjugat-Gebrauchsverdünnung:** **Konjugat-Konzentrat 1:10** mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen (siehe Tabelle 1). Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.

**Chromogen/Substratlösung:** Gebrauchsfertig.

## Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit

- 2 -

**Herstellung der Konjugat-Gebrauchsverdünnung IgA bzw. IgM**

Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen	Anzahl Streifen	Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung	Konjugat-Konzentrat	Endvolumen		
1	1,35 ml	+	0,15 ml	1,5 ml	26	35,10 ml	+	3,90 ml	39,0 ml
2	2,70 ml	+	0,30 ml	3,0 ml	27	36,45 ml	+	4,05 ml	40,5 ml
3	4,05 ml	+	0,45 ml	4,5 ml	28	37,80 ml	+	4,20 ml	42,0 ml
4	5,40 ml	+	0,60 ml	6,0 ml	29	39,15 ml	+	4,35 ml	43,5 ml
5	6,75 ml	+	0,75 ml	7,5 ml	30	40,50 ml	+	4,50 ml	45,0 ml
6	8,10 ml	+	0,90 ml	9,0 ml	31	41,85 ml	+	4,65 ml	46,5 ml
7	9,45 ml	+	1,05 ml	10,5 ml	32	43,20 ml	+	4,80 ml	48,0 ml
8	10,80 ml	+	1,20 ml	12,0 ml	33	44,55 ml	+	4,95 ml	49,5 ml
9	12,15 ml	+	1,35 ml	13,5 ml	34	45,90 ml	+	5,10 ml	51,0 ml
10	13,50 ml	+	1,50 ml	15,0 ml	35	47,25 ml	+	5,25 ml	52,5 ml
11	14,85 ml	+	1,65 ml	16,5 ml	36	48,60 ml	+	5,40 ml	54,0 ml
12	16,20 ml	+	1,80 ml	18,0 ml	37	49,95 ml	+	5,55 ml	55,5 ml
13	17,55 ml	+	1,95 ml	19,5 ml	38	51,30 ml	+	5,70 ml	57,0 ml
14	18,90 ml	+	2,10 ml	21,0 ml	39	52,65 ml	+	5,85 ml	58,5 ml
15	20,25 ml	+	2,25 ml	22,5 ml	40	54,00 ml	+	6,00 ml	60,0 ml
16	21,60 ml	+	2,40 ml	24,0 ml	41	55,35 ml	+	6,15 ml	61,5 ml
17	22,95 ml	+	2,55 ml	25,5 ml	42	56,70 ml	+	6,30 ml	63,0 ml
18	24,30 ml	+	2,70 ml	27,0 ml	43	58,05 ml	+	6,45 ml	64,5 ml
19	25,65 ml	+	2,85 ml	28,5 ml	44	59,40 ml	+	6,60 ml	66,0 ml
20	27,00 ml	+	3,00 ml	30,0 ml	45	60,75 ml	+	6,75 ml	67,5 ml
21	28,35 ml	+	3,15 ml	31,5 ml	46	62,10 ml	+	6,90 ml	69,0 ml
22	29,70 ml	+	3,30 ml	33,0 ml	47	63,45 ml	+	7,05 ml	70,5 ml
23	31,05 ml	+	3,45 ml	34,5 ml	48	64,80 ml	+	7,20 ml	72,0 ml
24	32,40 ml	+	3,60 ml	36,0 ml	49	66,15 ml	+	7,35 ml	73,5 ml
25	33,75 ml	+	3,75 ml	37,5 ml	50	67,50 ml	+	7,50 ml	75,0 ml

**Tabelle 1:** Konjugat-Konzentrat 1:10 mit Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung ansetzen

**Arbeitsvorschrift**

- Inkubationswanne mit jeweils ca. 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung spülen, Puffer abgießen
- Die gewünschte Anzahl an Teststreifen in die Inkubationswanne legen - ein Teststreifen pro Rinne
- Je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben und 5 Minuten bei Raumtemperatur (RT) auf dem Schüttler inkubieren
- Je 20 µl Patientenserum bzw. 100 µl Kontrollserum zugeben
- 30 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
- 3 x waschen:  
- je 1,5 ml Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung zugeben  
- 5 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren  
- Flüssigkeit abgießen
- Je 1,5 ml frische Konjugat-Gebrauchsverdünnung zugeben
- 15 Minuten bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
- 3 x waschen wie in Punkt 7
- Je 1,5 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser zugeben und 1 Minute bei RT auf dem Schüttler inkubieren
- Flüssigkeit abgießen
- Je 1,5 ml Chromogen/Substratlösung zugeben
- Bei RT auf dem Schüttler entwickeln  
  
Yersinia ViraStripe® IgA bzw. IgM: ca. 5 bis 15 Minuten
- Stoppen: Flüssigkeit abgießen
- 3 x mit je 1,5 ml dest. oder deionisiertem Wasser spülen
- Teststreifen trocknen lassen und auswerten

Inkubationswanne mit einem wasserunlöslichen Stift beschriften. Das Spülen entfernt Staubpartikel.

Pro Patienten- bzw. Kontrollserum je einen Teststreifen vorsichtig mit einer Pinzette an der Beschriftung fassen, vom Steg lösen und in die Inkubationswanne legen. **Die Seite mit der grünen Trennlinie und der Beschriftung muss nach oben weisen.**

Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen. Überlaufen vermeiden. **Puffer nicht abgießen.**

Seren direkt im Bereich der Beschriftung auf dem Teststreifen zugeben. Darauf achten, dass der Schüttler läuft, bzw. die Inkubationswanne nach jeder Serumzugabe schwenken.

Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.

Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen. **Beim Abgießen bleiben die Teststreifen am Inkubationswannenboden haften.**

Auf dem Schüttler. Restliche Flüssigkeit gut auf Filterpapier abklöpfen.

Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig mit Konjugat-Gebrauchsverdünnung bedeckt sind.

Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.

Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.

Auf dem Schüttler.

Sicherstellen, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind. Auf einen Schüttler mit einer Taktfrequenz von ca. 40/Minute stellen.

Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.

Darauf achten, dass die Teststreifen vollständig bedeckt sind.

Sobald die Cut off Kontrolle sichtbar ist, muss die Reaktion abgestoppt werden. **Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen. Achtung:** Zu langes Entwickeln verursacht Hintergrundfärbung.

Restliche Flüssigkeit auf Filterpapier gut abklöpfen.

Ohne Zwischeninkubation.

Inkubationswanne gut abklöpfen. Teststreifen auf Filterpapier oder saugfähiges, ungebleichtes Papier legen und trocknen lassen.

## Auswertung

- Auswerteprotokoll:** Daten in das Auswerteprotokoll aufnehmen. Die entwickelten Teststreifen auf das Auswerteprotokoll kleben. Dabei die grüne Trennlinie der Teststreifen exakt auf die im Protokoll vorgedruckte Trennlinie legen.
- Gültigkeit der Teststreifen:** Ein Teststreifen ist gültig, wenn folgende Banden sichtbar sind:
  - Die **Serumkontrolle**.
  - Die **Konjugatkontrolle** der untersuchten Konjugatklasse. Falls mehr als eine der drei Konjugatkontrollen auftreten, muss die stärkste Bande der untersuchten Konjugatklasse entsprechen.
  - Die **Cut off Kontrolle**.

**und** wenn folgende Bande **nicht** sichtbar ist:

  - Die **Negativkontrollbande**.

Ungültige Teststreifen nicht auswerten!
- Zuordnung der Antigenbanden:** Die grüne Trennlinie des Teststreifens gibt die Orientierung für die Zuordnung der Antigenbanden zu dem Bandlocator auf dem Auswerteprotokoll an. Banden zuordnen und entsprechend Punkt 4 protokollieren.
- Bandenbewertung:** Entsprechend den Qualitätsrichtlinien im Labor soll pro Testansatz eine Cut off Kontrolle mitgeführt werden (2). **Die Cut off Kontrolle für den Yersinia ViraStripe® IgA bzw. IgM befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.** Die Intensität der Cut off Kontrolle gibt den Schwellenwert an, ab dem eine Bande gewertet wird: Eine Bande wird als **deutlich** gewertet, wenn die Intensität **gleich** oder **größer** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist. Entsprechende Banden werden im Auswerteprotokoll mit **X** gekennzeichnet. Eine Bande wird nicht gewertet, wenn sie **nicht vorhanden** ist oder wenn ihre Intensität **kleiner** als die Intensität der Cut off Kontrolle ist.
- Beurteilung der Patientenbanden:** Die Patientenbanden sind als Krankheitssymptome zu werten. Eine endgültige Diagnose sollte immer unter Wertung von Anamnese, Klinik und Labordaten erfolgen. Als **hochspezifisch** für pathogene Yersinien gelten die Banden folgender Antigene: „Yersinia outer protein“: **YopH, YopM, YopB, LcrV, YopD, YopN und YopE**.

## IgA Interpretationskriterien

Allgemein gilt: Deutliche Banden müssen eine Mindestintensität aufweisen ( $\geq$  Cut off), die anhand der Cut off Kontrolle zu bestimmen ist. Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.

Auftretende Banden	Ergebnis	Beurteilung
<b>Eine deutliche YopD</b> Bande oder mindestens <b>zwei deutliche</b> Banden aus: <b>YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE</b>	<b>Positiv</b>	Spezifische Antikörper gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Eine Infektion ist wahrscheinlich. IgA Antikörper können über Jahre persistieren und sind bei Patienten mit Reaktiver Arthritis signifikant erhöht (21).
<b>Eine deutliche</b> Bande aus: <b>YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE</b> oder <b>keine</b> Bande(n)	<b>Negativ</b>	Keine spezifischen Antikörper gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion eine zweite Patientenprobe nach 3-4 Wochen untersuchen.

## IgM Interpretationskriterien

Allgemein gilt: Deutliche Banden müssen eine Mindestintensität aufweisen ( $\geq$  Cut off), die anhand der Cut off Kontrolle zu bestimmen ist. Die Cut off Kontrolle befindet sich im Kontrollabschnitt auf jedem Teststreifen.

Auftretende Banden	Ergebnis	Beurteilung
<b>Eine deutliche YopD</b> Bande oder mindestens <b>zwei deutliche</b> Banden aus: <b>YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE</b>	<b>Positiv</b>	Spezifische Antikörper gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Eine Infektion ist wahrscheinlich. IgM Antikörper deuten auf eine frische Infektion und persistieren meist nur 1-3 Monate (3,17)
<b>Eine deutliche</b> Bande aus: <b>YopH, YopM, YopB, LcrV, YopN, YopE</b> oder <b>keine</b> Bande(n)	<b>Negativ</b>	Keine spezifischen Antikörper gegen <b>Yersinia species</b> nachweisbar. Bei Verdacht auf eine Infektion eine zweite Patientenprobe nach 3-4 Wochen untersuchen.

## IgA Teststreifen

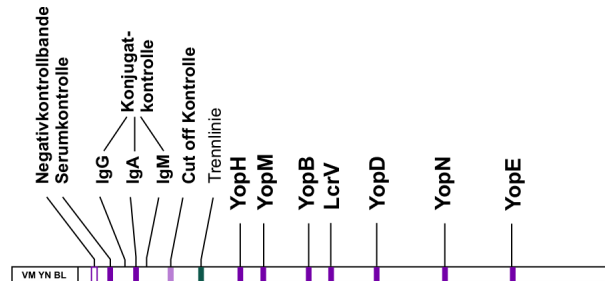


Abbildung 1: Schematische Abbildung eines Yersinia ViraStripe® IgA Teststreifens in Originalgröße.

## Nomenklatur und Beschreibung der Yersinia species Banden aus der Literatur

Bandennomenklatur:	Antigen:	Bemerkungen:
<b>YopH</b> 51kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>H</u>	Protein-Tyrosin-Phosphatase, greift in Signaltransduktionsvorgänge ein; im Zusammenhang mit YopE Blockierung der Phagozytosefähigkeit der Makrophagen; Cytotoxin (5).
<b>YopM</b> 44kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>M</u>	Bindung an humanes $\alpha$ -Thrombin (6).
<b>YopB</b> 41kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>B</u>	Transmembranprotein, Porenbildner; Transport von YopE und YopH (7), TNF- $\alpha$ -Suppressor (8,20).
<b>LcrV</b> 37kD	<u>L</u> ow <u>c</u> alcium <u>r</u> esponse <u>V</u> irulence	Regulation der Yop-Gene, wichtig für den Transport, aktiver und passiver Immunisierungsschutz für Infektion (9).
<b>YopD</b> 35kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>D</u>	Transmembranprotein, Transport von YopE und YopH (10,20).
<b>YopN</b> 33kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>N</u>	Ca <sup>2+</sup> -Sensor, Yop Regulation (11).
<b>YopE</b> 23kD	<u>Y</u> ersinia <u>o</u> uter <u>p</u> rotein <u>E</u>	Inhibition der Phagozytose durch Depolymerisation der Actin-Filamente (8).

## Diagnostische Bedeutung von Yersinia species Antikörpern

**1. IgG Antikörper** werden bei **akuter Yersiniose**, bei **Yersinien assoziierten reaktiven Arthritiden** und der **chronischen Yersiniose** gebildet (12,13,17). Im Frühstadium einer akuten Yersiniose sind sie nur schwach nachweisbar (12). Bei Verdacht auf eine frisch erworbene Infektion sollten daher eine IgM und eine IgA Bestimmung durchgeführt werden und nach 3-4 Wochen eine zweite Probe auf das Vorhandensein von IgG Antikörpern untersucht werden. IgG Antikörper persistieren häufig über 5 Jahre, mindestens aber 5 Monate nach Krankheitsbeginn (3,4). IgG Antikörper richten sich gegen alle sekretierten Proteine von Yersinia, am häufigsten jedoch gegen YopD, YopB, YopE, YopH und YopM (12,13).

**2. IgM Antikörper** treten stark bei **akuter Yersiniose** auf und persistieren 1-3 Monate nach Krankheitsbeginn (3,12,17,18). Bei Yersiniosen mit Spätfolgen (reaktiven Arthritiden und chronischen Enteritiden) sind IgM Titer selten (3,4,18). IgM kann bei Kleinkindern und Erwachsenen in Einzelfällen schwach, verzögert oder nicht auftreten.

**3. IgA Antikörper** werden in der Frühphase der **akuten Yersiniose** stark gebildet (12,13). Bei Yersinien assoziierter **reaktiver Arthritis** richtet sich die IgA Antwort in ca. 90 % der Fälle gegen das YopD (12,13,14). Bei der chronischen Yersiniose sind IgA Antikörper gegen YopD, YopB und YopE

nachweisbar. Im Fall der Yersiniosen mit Spätfolgen persistieren IgA Antikörper meistens über Jahre, im Fall der Yersiniosen ohne Spätfolgen in der Regel nur über Monate (3,4,14,15,17,18,19,21,22). Antibiotika-Behandlung führt zu einer verstärkten Abnahme der IgA Titer (16).

**4.** Antikörper gegen die pathogenen Yersinien Stämme (*Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis* und *Y. pestis*) werden in der Regel erfasst (12).

**5.** Medikamente und Immunglobulingaben können unspezifische Antikörperreaktionen hervorrufen (1).

**6.** *Y. pseudotuberculosis* und *Y. enterocolitica*, Erreger der Yersiniose, können **enterale Infektionen** (Akuterkrankung) aber auch **extra-intestinale Manifestationen** (Folgeerkrankung) verursachen. Die meisten Fälle der enteralen Yersiniosen verlaufen unkompliziert. Allerdings kann es bei ca. 10% der Betroffenen im Anschluss zu Entzündungen der Gelenke (reaktive Arthritiden), der Harnwege und der Augen kommen. **Reaktive Arthritiden** sind postinfektiöse, entzündungsrheumatische Gelenkerkrankungen, bei denen jedoch keine intraartikuläre Infektion vorliegt.

„Die Diagnose der akuten Erkrankung stützt sich primär auf den Erregernachweis. Die **Serodiagnostik** ist zur ergänzenden Diagnostik der akuten Infektion geeignet, für die **Aufklärung von Folgeerkrankungen essentiell**“ (1).

## IgA Leistungsdaten

### Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden positive und negative Seren mit dem Yersinia ViraStripe® IgA im Vergleich zum Yersinia ViraBlot® IgA untersucht.

Yersinia ViraStripe® \ Yersinia ViraBlot®	Positiv	Negativ
Positiv	151	1
Negativ	1	208

**IgA:** Sensitivität des Yersinia ViraStripe®: **99,3%**  
Spezifität des Yersinia ViraStripe®: **99,5%**

**Tabelle 2:** Übereinstimmung des Yersinia ViraStripe® IgA mit dem Yersinia ViraBlot® IgA bei Yersinia ViraBlot® IgA vorcharakterisierten Seren, n = 361.

Yersinia ViraStripe® \ Yersinia ViraBlot®	Positiv	Negativ
Positiv	31	0
Negativ	0	0

**IgA:** Sensitivität des Yersinia ViraStripe®: **100%**  
Korrelation des Yersinia ViraStripe® mit dem Yersinia ViraBlot®: **100%**

**Tabelle 3:** Übereinstimmung des Yersinia ViraStripe® IgA mit dem Yersinia ViraBlot® IgA bei klinisch definierten Yersinia positiven Seren, n = 31.

### Seroprävalenz von anti-Yersinia IgA Antikörpern bei Blutspendern

	Yersinia ViraStripe® IgA
Positiv	14
Negativ	132

**IgA:** Seroprävalenz: **9,6 %**

**Tabelle 4:** Seroprävalenz von anti-Yersinia IgA Antikörpern bei Blutspendern, n = 146.

Bezogen auf das Vorhandensein von anti-IgA Antikörpern wurde in Referenzstudien gezeigt, daß etwa 10% der Blutspender ein positives Testergebnis aufweisen (24,25). Bei der Untersuchung von 146 unselektierten Blutspenderseren mit dem Yersinia ViraStripe® IgA wurde in 9,6 % der Fälle ein positives Testergebnis erhalten (siehe Tabelle 4).

## IgM Leistungsdaten

### Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden positive und negative Seren mit dem Yersinia ViraStripe® IgM im Vergleich zum Yersinia ViraBlot® IgM untersucht.

Yersinia ViraStripe® \ Yersinia ViraBlot®	Positiv	Negativ
Positiv	39	0
Negativ	0	272

**IgM:** Sensitivität des Yersinia ViraStripe®: **100%**  
Spezifität des Yersinia ViraStripe®: **100%**

**Tabelle 5:** Übereinstimmung des Yersinia ViraStripe® IgM mit dem Yersinia ViraBlot® IgM bei Yersinia ViraBlot® IgM vorcharakterisierten Seren, n = 311.

Yersinia ViraStripe® \ Yersinia ViraBlot®	Positiv	Negativ
Positiv	29	0
Negativ	0	1

**IgM:** Sensitivität des Yersinia ViraStripe®: **96,7%**  
Korrelation des Yersinia ViraStripe® mit dem Yersinia ViraBlot®: **100%**

**Tabelle 6:** Übereinstimmung des Yersinia ViraStripe® IgM mit dem Yersinia ViraBlot® IgM bei klinisch definierten Yersinia positiven Seren, n = 30.

**Seroprävalenz von anti-Yersinia IgM Antikörpern bei Blutspendern**

	Yersinia ViraStripe® IgM
Positiv	1
Negativ	145

**IgM:** Seroprävalenz: 0,7 %

**Tabelle 7:** Seroprävalenz von anti-Yersinia IgM Antikörpern bei Blutspendern, n = 146.

Bei der Untersuchung von 146 unselektierten Blutspendenserern mit dem Yersinia ViraStripe® IgM wurde in 0,7 % der Fälle ein positives Testergebnis erhalten (siehe Tabelle 7).

**Vorsichtsmaßnahmen / Sicherheitsvorkehrungen**

- Alle humanen Serumkomponenten wurden auf HCV-, HIV1,2-Antikörper und HBs-Antigen untersucht und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kitkomponenten, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös betrachtet und mit entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen verwendet werden. Bei Arbeiten mit potentiell gefährlichen oder infektiösen Materialien sind die entsprechenden nationalen/internationalen Gesetze, Verordnungen und Vorschriften zu beachten. Dies gilt ebenfalls für die Lagerung und Entsorgung der verwendeten Chemikalien und Reagenzien.
- Die Schutzmaßnahmen für das Arbeiten mit Gefahr- und Biostoffen sind gemäß den aktuell gültigen länderspezifischen Richtlinien für Laboratorien zu beachten. Allgemein sollten beim Umgang mit biologischen und chemischen Arbeitsstoffen die Richtlinien zur „Guten Laborpraxis (GLP)“ angewendet werden. Allgemeine Hygienemaßnahmen sind unter anderem:
  - Nicht mit dem Mund pipettieren.
  - Einweg-Handschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen.
  - Am Arbeitsplatz nicht essen, trinken oder rauchen.

- Die Chromogen/Substratlösung enthält BCIP und NBT. Berührung mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Bei Berührung mit Haut und Augen sofort mit viel Wasser nachwaschen.
- Proben und alle möglicherweise kontaminierten Materialien sowie flüssige infektiöse Abfälle sind gemäß allgemein anerkannter Labortechniken zu dekontaminieren, z.B. durch ein mindestens 20-minütiges Autoklavieren bei 121°C bei feuchter Hitze. Zur Entsorgung flüssiger Abfälle können diese z.B. mit Natriumhypochlorit in einem Volumenverhältnis gemischt werden, so dass das Endgemisch 1% Natriumhypochlorit enthält. Zur vollständigen Desinfektion 30 Minuten einwirken lassen.
- Bitte beachten Sie die Angaben in den Sicherheitsdatenblättern über mögliche Gefahren, Erste-Hilfe-Maßnahmen, Maßnahmen bei unbeabsichtigter Freisetzung von größeren Mengen, Handhabung und Lagerung, persönliche Schutzausrüstung, Hinweise zur Entsorgung sowie Angaben zur Toxikologie.

**Lagerung und Haltbarkeit der Reagenzien**

- 1. Teststreifen:** Verschllossen in der Originalverpackung bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- 2. Konjugat-Konzentrat:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- 3. Konjugat-Gebrauchsverdünnung:** Vor jedem Testansatz frisch ansetzen. Nicht aufbewahren.
- 4. Proben-/Waschpuffer-Konzentrat, 10-fach:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.

- 5. Proben-/Waschpuffer-Gebrauchsverdünnung:** Bei 2-8°C ca. 2 Wochen haltbar. Bei längerer Aufbewahrung kann die Gebrauchsverdünnung aliquotiert bei -20°C eingefroren werden.
- 6. Proben-/Waschpuffersalz:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum.
- 7. Chromogen/Substratlösung:** Bei 2-8°C haltbar bis zum Verfallsdatum. Vor Lichteinfall schützen!

**Hinweise zum Probenmaterial**

- Der Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit ist mit Serum als Probenmaterial durchzuführen.
- Es sind nur klare, nicht-hämolytierte und nicht mikrobiell kontaminierte Proben zu verwenden.
- Proben, die mit Hitze vorbehandelt wurden, hämolytisch, ikterisch oder lipämisch sind, können zu falschen Ergebnissen führen.

- In der Regel können unverdünnte Proben bis zu 5 Tage bei 2-8°C aufbewahrt werden. Für eine längere Lagerung sind die Proben in Aliquots bei -20°C (oder kälter) einzufrieren.
- Vor Beginn der Testdurchführung sollten die Proben auf Raumtemperatur gebracht werden. Proben nach dem Auftauen vorsichtig mischen und bei Bedarf sichtbare Partikel durch Zentrifugation entfernen.
- Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

**Einschränkungen des Verfahrens**

- Um ein exaktes Testergebnis zu erhalten, müssen die Gebrauchsanweisung und „Good Laboratory Practice“ genau eingehalten werden.
- Ein positives Testergebnis wird aufgrund erhöhter spezifischer Antikörpertiter erreicht und ist wie ein Symptom zu werten. Der Rückschluss auf eine Infektion ist nur bedingt möglich.
- Ein negatives Testergebnis schließt einen Erregerkontakt bzw. eine Infektion nicht aus.
- Dieser Test ist nur durchzuführen von Fachpersonal, das bezüglich des Testverfahrens geschult wurde.
- Der Nachweis von spezifischen Antikörpern kann bei Untersuchungen

- mit verschiedenen Testen bzw. von verschiedenen Herstellern aufgrund von unterschiedlichen Sensitivitäten, Spezifitäten und Testmethoden zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.
- Teststreifen mit extrem starkem Hintergrund sind nicht auszuwerten, vor allem wenn Banden heller als der Hintergrund erscheinen.
  - In vitro-Diagnostika dürfen nicht über das angegebene Verfallsdatum hinaus verwendet werden, da zuverlässige Ergebnisse dann nicht mehr gewährleistet sind.
  - Gründliches Waschen ist essentiell für exakte Testergebnisse. Ungeügendes Waschen kann falsche Ergebnisse verursachen.









## Yersinia ViraStripe® IgA Test Kit

- 7 -

**Literatur**

1. THOMAS, L.: Labor und Diagnose, Med. Verlagsgesellschaft Marburg (2008)
2. RILI-BÄK: Bäk-Richtlinie zur Qualitätssicherung quantitativer laboratoriums-medizinischer Untersuchungen, (2008), www.bundesaeztekammer.de
3. GRANFORS, K. et al.: Persistence of IgM, IgG, and IgA antibodies to Yersinia in yersinia arthritis. J. Infect. Dis. (1980)
4. MÄKI-IKOLA, O. et al.: Combined use of released proteins and lipopolysaccharide in enzyme-linked immunosorbent assay for serologic screening of Yersinia infections. J. Infect. Dis. 163 :409-412 (1991)
5. ZHANG, Z. Y. et al.: Expression, purification, and physicochemical characterization of a recombinant Yersinia protein tyrosine phosphatase. J. Biol. Chem. 267(33):23759-23766 (1992)
6. REISNER, B. S. et al.: Yersinia pestis YopM: thrombin binding and overexpression. Infect. Immun. 60:5252-5262 (1992)
7. FORSBERG, A. et al.: Regulation and polarized transfer of the Yersinia outer proteins (Yops) involved in antiphagocytosis Trends in Microbiology 2(1) : 14-19 (1994)
8. BEUSCHER, H. U. et al.: Bacterial evasion of host immune defense: Yersinia enterocolitica encodes a suppressor for tumor necrosis factor alpha expression. Infect. Immun. 63(4):1270-1277 (1995)
9. ROGGENKAMP, A. et al.: Interaction of Yersinia enterocolitica with macrophages leads to macrophage cell death through apoptosis. Infect. Immun. 65(2):446-451 (1997)
10. ROSQUIST, R. et al.: The cytotoxic protein YopE of Yersinia obstructs the primary host defence. Mol. Microbiol. 1:657667 (1990)
11. VIITANEN, A. M. et al.: The lcrE gene is part of an operon in the lcr region of Yersinia enterocolitica O:3. Mol. Microbiol. 172:3152-3162 (1990)
12. CREMER, J. et al.: Immunoblotting of Yersinia plasmid-encoded released proteins: a tool for serodiagnosis. Electrophoresis (1993)
13. STAHLBERG, T. et al.: Immunoblotting analysis of human IgM, IgG and IgA response to chromosomally coded antigens of Yersinia enterocolitica O:3.J. Med. Microbiol., 24(2): 157-163 (1987)
14. STAHLBERG, T. et al.: Immunoblot analysis of IgM, IgG, and IgA responses to plasmid encoded released proteins of Yersinia enterocolitica in patients with or without yersinia triggered reactive arthritis. Ann. Rheum. Dis. (1989)
15. DE KONING, J. et al.: Demonstration of spirochetes in cardiac biopsies of patients with Lyme disease. J. Infect. Dis. (1989)
16. HOOGKAMP-KORSTANJE, J. A. et al.: Interrepeat fingerprinting of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacter cloacae isolated during an outbreak in a neonatal intensive care unit. Infection (1992)
17. GRANFORS, K. et al.: Measurement of immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA antibodies against Yersinia enterocolitica by enzyme-linked immunosorbent assay: persistence of serum antibodies during disease. J Clin Microbiol. (3):336-41 (1979)
18. GRANFORS, K. et al.: IgA-anti-yersinia antibodies in yersinia triggered reactive arthritis. Ann Rheum Dis. 45(7):561-5 (1986)
19. TOIVANEN, A. et al.: Association of persisting IgA response with yersinia triggered reactive arthritis: a study on 104 patients. Ann Rheum Dis. 46(12):898-901 (1987)
20. HARTLAND, E. L. et al.: Contribution of YopB to virulence of Yersinia enterocolitica. Infect Immun. 64(6):2308-14 (1996)
21. LAHESMAA-RANTALA, R. et al.: Avidity of antibodies against released proteins of Yersinia spp: comparison of patients with or without reactive arthritis. Ann Rheum Dis. 48(12):1003-6 (1989)
22. LARSEN, H. J. et al.: The determination of specific IgA-antibodies to Yersinia enterocolitica and their role in enteric infections and their complications. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand B. 93(5):331-9 (1985)
23. KIST, M. et al.: Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, 9-2000: Infektionen des Darmes, URBAN & FISCHER, (2000)
24. HAMMER, M. et al.: Yersinien-induzierte Arthritiden. Wien Med Wochenschr. 140(12):306-11 (1990)
25. HEESEMANN, J. et al.: Imm. Infekt. (Sonderheft) 18-23 (1989)

**Symbolerklärungen**

	Hersteller	<b>REF</b>	Bestellnummer
	Gebrauchsanweisung beachten		Verwendbar bis / Mindesthaltbarkeitsdatum
<b>IVD</b>	In-Vitro Diagnostikum		Temperaturbegrenzung (Lagerung)
<b>LOT</b>	Testkit-Chargen-Nummer	<b>CONTROL+</b>	Positive Serumkontrolle
	Ausreichend für 50 Ansätze	<b>CONTROL-</b>	Negative Serumkontrolle
	Raumtemperatur in °C	<b>CONTROL</b>	Kontrolle
	Bearbeiter	<b>DATE</b>	Datum
<b>#</b>	Probennummer	 <b>SUBSTRATE</b>	Chromogen/Substratentwicklungszeit in Minuten
<b>PROTOCOL</b>	Auswerteprotokoll	<b>No</b>	Protokollnummer