



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

Wantai Hepatitis-E-Virus-Diagnose

WANTAI HEV IgM ELISA

Diagnoseset für die Ermittlung der IgM-Antikörper zum Hepatitis-E-Virus (ELISA)

REF WE-7196



V. 2016-01 [Eng.]

96



Lesen Sie sich vor Durchführung der Untersuchung die Packungsbeilage sorgfältig und gründlich durch. Befolgen Sie die Anweisungen, und ändern Sie die beschriebene Vorgehensweise nicht. Nur durch die strikte Einhaltung dieser Anweisungen können fehlerhafte Ergebnisse vermieden und die optimale Leistung des WANTAI HEV IgM ELISA sichergestellt werden.

BESTIMMUNGSGEMÄSSE VERWENDUNG

Beim WANTAI HEV IgM ELISA handelt es sich um ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA) für die qualitative Erfassung der IgM-Antikörper zum Hepatitis-E-Virus in menschlichen Serum- oder Plasmaproben. Er soll in klinischen Laboren zur Diagnose und Management von Patienten in Verbindung mit einer Infektion mit dem Hepatitis-E-Virus verwendet werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Das Hepatitis-E-Virus (HEV) ist ein unbehülltes, einzelsträngiges RNA-Virus, das im Jahr 1990 identifiziert wurde. Eine HEV-Infektion führt zu akuten oder subklinischen Lebererkrankungen, die der Hepatitis A ähneln. HEV-Infektionen, in Entwicklungsländern endemisch und häufig epidemisch, gibt es auch in Industrieländern, in sporadischer Form oder ohne dass zuvor eine Reise in ein endemisches Gebiet stattgefunden hat. Die allgemeine Fallsterblichkeit liegt bei 0,5–3 % und bei schwangeren Frauen sehr viel höher (15–25 %). 1995 wurde die Hypothese aufgestellt, dass eine HIV-Infektion eine Zoonose ist. Dann wurden eine Schweine-HEV und später eine Vogel-HEV identifiziert und getrennt voneinander im Jahr 1997 und 2001 sequenziert. Seitdem umfasst eine HEV-Infektion jede Anti-HEV, Vämie und Ausscheidung von HEV im Stuhl, die bei einer breit gefassten Anzahl von Tieren auftritt, z. B. bei Schweinen, Nagetieren, wilden Affen, Wild, Kühen, Ziegen, Hunden und Hühnern sowohl in den Entwicklungs- als auch in den Industrieländern. Es gab die direkte Aussage, dass der Verzehr von rohem Wild, das mit HEV infiziert war, zu einer akuten Hepatitis E beim Menschen führte. Und HEV-Genom-Sequenzen sind in Schweinelebern zu finden, die es in japanischen Supermärkten gibt.

GRUNDSATZ DER UNTERSUCHUNG

Beim WANTAI HEV IgM ELISA handelt es sich um einen zweistufigen Inkubations-, Festphasen-ELISA-Test zur Ermittlung von Antikörpern, bei dem Polystyren-Mikrotiterstreifen mit Antikörpern vorbeschichtet werden, die an menschliche Immunglobulin-M-Proteine (Anti- μ -Kette) gerichtet sind. Die Serum- oder Plasmaprobe des Patienten wird hinzugefügt und während des ersten Inkubationsschrittes werden jegliche IgM-Antikörper in den Vertiefungen erfasst. Nach dem Auswaschen aller übrigen Substanzen der Probe und insbesondere der Antikörper der IgG-Klasse werden die spezifischen HEV-IgM-Antikörper, die in der Festphase erfasst werden, durch die Zugabe des rekombinanten HEV-ORF2-Antigens, das an das Enzym Meerrettich-Peroxidase (engl. *Horseradish Peroxidase*, HRP) konjugiert ist (HRP-Konjugat), erkannt. Während der zweiten Inkubation reagieren die HRP-konjugierten Antigene spezifisch nur mit HEV-IgM-Antikörpern. Nach dem Waschen zur Entfernung des nicht gebundenen HRP-Konjugats werden die Chromogen-Lösungen in den Vertiefungen hinzugefügt. Beim Vorhandensein eines (Anti- μ) - (HEV-IgM) - (HEV-Ag-HRP)-Immunkomplexes werden die farblosen Chromogene vom gebundenen HRP-Konjugat zu einem blauen Produkt hydrolysiert. Die blaue Farbe wird gelb, nachdem die Reaktion mit Schwefelsäure angehalten wurde. Die Farbintensität kann gemessen werden und ist proportional zur Menge an Antikörpern, die im Innern der Vertiefungen gebunden werden, bzw. zur Menge an Antikörpern in der Probe. Vertiefungen, die Proben enthalten, welche für HEV-IgM negativ sind, bleiben farblos.

KOMPONENTEN

IVD Nur für die In-Vitro-Diagnose

Dieses Kit enthält Reagenzien, die ausreichend sind, um maximal 91 Proben in einem Testdurchlauf zu testen.

UUU PLATTE

Code 5 (1 x 96 Vertiefungen)
8x12/12x8-Vertiefungen pro
Platte

MIKROTITERPLATTE: Leere Mikrotiterstreifen, die auf einem weißen Streifenhalter angebracht sind. Die Platte ist in einem Aluminiumbeutel mit einem Trockenmittel luftdicht verschlossen. Jede Vertiefung enthält Anti-IgM-Antikörper (Anti- μ -Kette). Die Mikrotiterstreifen können zerteilt und separat verwendet werden. Geben Sie nicht verwendete Vertiefungen oder Mikrotiterstreifen zusammen mit dem Trockenmittel in den mitgelieferten, luftdicht verschließbaren Lagerbeutel aus Kunststoff, und lagern Sie diesen bei 2-8°C. Nach dem Öffnen sind diese 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

KONTROLLE I -

Code 8 (1x 0,5 ml pro Phirole)
preserv.0.1% ProClim™ 300

KONTROLLE I +

Code 7 (1x 0,5 ml pro Phirole)
preserv.0.1% ProClim™ 300

HRP CON

Code 6 (1x 12 ml pro Phirole)
preserv.0.1% ProClim™ 300

DIL SPE

Code 9 (1x 12 ml pro Phirole)
preserv.0.1% ProClim™ 300

WASH BUF 20X

Code 1 (1x 50 ml pro Flasche)
VOR DER VERWENDUNG
VERDÜNNEN!
detergent Tween-20

CHROM SOL A

Code 2 (1x 7 ml pro Phirole)

CHROM SOL B

Code 3 (1x 7 ml pro Phirole)

STOP SOL

Code 4 (1x 7 ml pro Phirole)

- **LUFTDICHT VERSCHLEISSBARER PLASTIKBEUTEL:** Zur luftdichten Aufbewahrung der nicht verwendeten Streifen 1 Stück
- **PACKUNGSBEILAGE**
E x e m p l a r 1
- **PLATTENABDECKUNG AUS PAPPE**
B o g e n 2

Zur Abdeckung der Platten während der Inkubation und zur Verhinderung einer Evaporation oder Kontaminierung der Vertiefungen.

ERFORDERLICHE MATERIALIEN, DIE NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTEN SIND

Frisch destilliertes oder deionisiertes Wasser, Einmalhandschuhe und Timer, geeignete Abfallbehälter für potenziell kontaminierte Materialien, Dosiersystem bzw. Pipette, Einwegpipettenspitzen, absorbierender Stoff oder sauberes Handtuch, trockener Inkubator oder Wasserbad, 37±1°C, Plattenlesegerät, einfache Wellenlänge 450 nm oder doppelte Wellenlänge 450/600–650 nm, Absaug-/Waschsystem für Mikrotiterplatten.

PROBENENTNAHME, TRANSPORT UND LAGERUNG

1. **Probenentnahme:** Es ist keine besondere Vorbereitung am Patienten erforderlich. Entnehmen Sie die Probe gemäß dem gängigen Laborverfahren. Bei dieser Untersuchung können entweder frische Serum- oder Plasmaproben verwendet werden. Blut, das durch Venenpunktion entnommen wurde, sollte auf natürliche Weise und komplett gerinnen - das Serum/Plasma muss so früh wie möglich vom Gerinnsel getrennt werden, um eine Hämolyse der RBC zu verhindern. Es sollte besonders sorgsam vorgegangen werden, um sicherzustellen, dass die Serumproben klar sind und nicht durch Mikroorganismen kontaminiert werden. Jegliche sichtbare Feststoffteilchen in der Probe sind durch Zentrifugation bei 3000 U/min (Umdrehungen pro Minute) 20 Minuten lang bei Raumtemperatur oder durch Filtration zu entfernen. Plasmaproben, die in EDTA, Natriumzitrat oder Heparin genommen werden, können geprüft werden; **hochgradig lipämische, ikterische oder hämolytische Proben sollten jedoch nicht verwendet werden**, da diese zu falschen Untersuchungsergebnissen führen können. **Inaktivierte Proben nicht erhitzen.** Dies kann zu einer Schädigung des Zielanalyts führen. Proben mit einer sichtbaren mikrobischen Verunreinigung

NEGATIVE KONTROLLE: Blaue Flüssigkeit in einer Phirole mit grünem Schraubverschluss. Protein-stabilisierter Puffer, der als nicht reaktiv für HEV-IgM-Antikörper getestet wurde. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

POSITIVE KONTROLLE: Rote Flüssigkeit in einer Phirole mit rotem Schraubverschluss. Gereinigte HEV-IgM-Antikörper verdünnt in protein-stabilisiertem Puffer. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

HRP-KONJUGAT: Rote Flüssigkeit in einer weißen Phirole mit rotem Schraubverschluss. HRP-konjugierte, rekombinante HEV-Antigene. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL: Blaue Flüssigkeit in einer weißen Phirole mit blauem Schraubverschluss. Proteinhaltige Pufferlösung. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

WASCHPUFFER: Farblose Flüssigkeit, die in eine weiße Flasche mit weißem Schraubverschluss gefüllt ist. Oberflächenaaktive Pufferlösung. Das Konzentrat muss in einem Verhältnis von **1 zu 20** mit destilliertem/deionisiertem Wasser verdünnt werden, bevor es verwendet werden kann. Nach der Verdünnung ist es 1 Woche bei Raumtemperatur und 2 Wochen bei einer Lagerung bei 2-8°C haltbar.

CHROMOGEN-LÖSUNG A: Farblose Flüssigkeit, die in eine weiße Phirole mit grünem Schraubverschluss gefüllt ist. Urea-Peroxid-Lösung. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

CHROMOGEN-LÖSUNG B: Farblose Flüssigkeit, die in eine schwarze Phirole mit schwarzem Schraubverschluss gefüllt ist. TMB (Tetramethyl-Benzidin), N,N-Dimethylformamid. Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

STOPP-LÖSUNG: Farblose Flüssigkeit in einer weißen Phirole mit gelbem Schraubverschluss. Verdünnte Schwefelsäurelösung (0,5M H₂SO₄). Wird im einsatzbereiten Zustand geliefert. Nach dem Öffnen 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

sollten nicht verwendet werden.

3. Der WANTAI HEV IgM ELISA ist AUSSCHLIESSLICH für das Testen von individuellen Serum- oder Plasmaproben vorgesehen. Verwenden Sie den Test nicht für die Untersuchung von Kadaverproben, Speichel, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten oder Poolblutproben.
4. **Transport und Lagerung:** Lagern Sie die Proben bei 2-8°C. Proben, die nicht innerhalb von 1 Woche für die Untersuchung benötigt werden, sollten eingefroren werden (-20°C oder weniger). Ein mehrfaches Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden. Für den Transport sollten die Proben gemäß den bestehenden lokalen und internationalen Richtlinien für den Transport klinischer Proben und ätiologischer Mittel verpackt und gekennzeichnet werden.

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Die Komponenten des Kits bleiben bis zum Verfallsdatum, das auf dem Etikett und der Verpackung angegeben ist, haltbar, wenn diese bei 2-8°C gelagert werden. Sie dürfen nicht eingefroren werden. Um die maximale Leistung des WANTAI HEV IgM ELISA sicherzustellen, sind die Reagenzien während der Lagerung vor einer Kontaminierung mit Mikroorganismen oder Chemikalien zu schützen.

VORSICHTSMASSNAHMEN UND SICHERHEIT

NUR VON QUALIFIZIERTEN PERSONEN ZU VERWENDEN

Die ELISA-Tests sind zeit- und temperaturempfindlich. Um falsche Ergebnisse zu vermeiden, **müssen die Schritte des Testverfahrens strikt eingehalten und dürfen nicht verändert werden.**

1. Tauschen Sie Reagenzien aus verschiedenen Chargen nicht aus bzw. verwenden Sie keine Reagenzien aus anderen kommerziell erhältlichen Kits. Die Komponenten des Kits sind präzise abgestimmt, um eine optimale Leistung der Tests zu erzielen.
2. Stellen Sie sicher, dass alle Reagenzien in dem Gültigkeitszeitraum liegen, der auf der Schachtel des Kits angegeben ist, und aus derselben Charge stammen. Verwenden Sie keine Reagenzien nach ihrem Verfallsdatum, das auf den Etiketten oder der Verpackung angegeben ist.
3. **ACHTUNG - KRITISCHER SCHRITT:** Lassen Sie die Reagenzien und Proben Raumtemperatur (18-30°C) erreichen, bevor Sie diese verwenden. Schütteln Sie die Reagenzien leicht vor der Verwendung. Lagern Sie diese sofort nach der Verwendung wieder bei 2-8°C ein.
4. Nutzen Sie nur ein ausreichendes Probenvolumen, das in den Verfahrensschritten angegeben ist. Andernfalls kann es zu einer geringen Empfindlichkeit der Tests kommen.
5. Berühren Sie nicht die äußere Oberfläche der Vertiefungen nicht; Fingerabdrücke oder Kratzer können die Ablesung stören. Beim Ablesen der Ergebnisse ist sicherzustellen, dass der Boden der Platte trocken ist und in den Vertiefungen keine Blasen vorhanden sind.
6. Lassen Sie die Vertiefungen der Mikrotiterplatten nach dem Schritt des Waschens nicht trocknen. Fahren Sie umgehend mit dem nächsten Schritt fort. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen, wenn Sie die Reagenzien hinzufügen.
7. Vermeiden Sie lange andauernde Unterbrechungen bei den Untersuchungsschritten. Stellen Sie sicher, dass alle Vertiefungen denselben Arbeitsbedingungen unterliegen.
8. Kalibrieren Sie die Pipette häufig, um die Genauigkeit der Proben-/Reagenziendosierung sicherzustellen. Verwenden Sie neue Einweg-Pipettenspitzen für jede Probe und Reagenz, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
9. Stellen Sie sicher, dass die Inkubationstemperatur im Innern des Inkubators 37°C beträgt.
10. Berühren Sie die Unterseite der Vertiefung nicht mit der Pipettenspitze, wenn Sie Proben hinzugeben.
11. Bestimmen Sie die Absorption bei 450 nm oder 450/600–650 nm bei der Messung mit einem Plattenlesegerät.
12. Die enzymatische Aktivität des HRP-Konjugats kann von Staub und anderen reaktiven Chemikalien und Substanzen wie Natriumhypochlorit, Säuren, Basen, usw. beeinträchtigt werden. Führen Sie die Untersuchung nicht durch, wenn diese Stoffe vorhanden sind.
13. Bei der Verwendung von vollautomatischen Geräten dürfen die Platten während der Inkubation nicht mit der Plattenabdeckung abgedeckt werden. Nach dem Waschen müssen auch keine Rückstände im Innern der Platte herausgeklöpft werden.
14. Alle Proben menschlichen Ursprungs sind als potenziell infektiös anzusehen. Die strenge Einhaltung der Richtlinien der *Good Laboratory Practice* (gute Laborpraxis) kann die persönliche Sicherheit sicherstellen.
15. **ACHTUNG:** Bei der Herstellung der negativen Kontrolle des Kits wurden möglicherweise Materialien menschlichen Ursprungs verwendet. Diese Materialien wurden mit dem Testkit mit akzeptierter Leistung geprüft und für HBsAg und Antikörper zu HIV 1/2, HCV, TP für negativ befunden. Es gibt jedoch kein analytisches Verfahren, das sicherstellen kann, dass absolut keine Infektionserreger in den Proben oder Reagenzien vorhanden sind. Daher sollten Sie Reagenzien und Proben mit äußerster Vorsicht handhaben, so als ob diese Infektionskrankheiten übertragen könnten. Rinderserum werden für die Stabilisierung der positiven und negativen Kontrollen verwendet. Rinderseerumalbumin (*Bovine Serum Albumin*, BSA) und fötales Kälberserum (*Fetal Calf Serum*, FCS) werden von Tieren aus BSE/TFSE-freien geographischen Regionen gewonnen.
16. In den Untersuchungslaboren sind Essen, Trinken, Rauchen oder das Auftragen von Kosmetikartikeln untersagt. Pipettieren Sie Lösungen nicht mit dem Mund.
17. Chemikalien dürfen nur gemäß der aktuellen *GLP* (*Good Laboratory Practice*, gute Laborpraxis) und den lokalen oder nationalen Richtlinien gehandhabt und entsorgt werden.
18. Die Pipettenspitzen, Phiolen, Streifen und Probenbehälter sind zu sammeln und mindestens 2 Stunden bei 121°C zu autoklavieren oder mit 10%-Natriumhypochlorit 30 Minuten lang zu behandeln, um diese zu dekontaminieren, bevor weitere Entsorgungsschritte eingeleitet werden. Lösungen, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen NIEMALS autoklaviert werden. Materialsicherheitsdatenblätter (MSDB) sind auf Anfrage erhältlich.
19. Einige Reagenzien können als Rohstoffe eine Toxizität, Reizung oder Verbrennungen verursachen oder

- kreberregend sein. Unter anderem – jedoch nicht ausschließlich – bei den folgenden Reagenzien ist ein Kontakt mit der Haut und den Schleimhäuten unbedingt zu vermeiden: Stopp-Lösung, Chromogene und Waschpuffer.
20. Bei der Stopp-Lösung 0,5M H₂SO₄ handelt es sich um eine Säure. Verwenden Sie diese mit der entsprechenden Vorsicht. Wischen Sie verschüttete Lösung sofort auf, und spülen Sie Ihre Haut oder Augen mit Wasser, wenn diese mit der Lösung in Kontakt kommen.
21. Als Konservierungsmittel kann ProCin™ 300 0,1% eine Hautreizung verursachen. Wischen Sie verschüttete Mittel sofort auf bzw. spülen Sie Ihre Haut oder Augen mit Wasser, wenn diese mit der Lösung in Kontakt kommen.

INDIKATIONEN FÜR EINE INSTABILITÄT ODER SCHÄDIGUNG DES REAGENZES: Werte der positiven oder negativen Kontrollen, die außerhalb des angegebenen Bereichs der Qualitätskontrolle liegen, sind Indikatoren für eine mögliche Schädigung der Reagenzien und/oder Betreiber- oder Ausrüstungsfehler. In solch einem Fall sind die Ergebnisse als ungültig anzusehen, und die Proben müssen erneut getestet werden. Bei konstant fehlerhaften Ergebnissen und einer nachgewiesenen Schädigung oder Instabilität der Reagenzien müssen die Reagenzien sofort durch neue ausgetauscht werden; alternativ können Sie den technischen Support von Wantai kontaktieren und um weitere Unterstützung bitten.



Achtung:
H317, P280, P333+P313, P363
ProCin™ 300



Gefahr:
H360D, P201, P280, P308+P313
N,N-Dimethylformamid

VERFAHREN

Vorbereitung der Reagenzien: Warten Sie, bis die Reagenzien und Proben Raumtemperatur (**18-30°C**) erreicht haben. Prüfen Sie das Waschpufferkonzentrat auf das Vorhandensein von Salzkristallen. Wenn sich solche Kristalle gebildet haben, lösen Sie das Konzentrat wieder auf, indem Sie es bei 37°C erhitzen, bis sich die Kristalle auflösen. Verdünnen Sie den Waschpuffer (20X), wie in den Anweisungen für das Waschen angegeben. Verwenden Sie destilliertes oder deionisiertes Wasser und ausschließlich saubere Gefäße, um den Puffer zu verdünnen. Alle anderen Reagenzien sind **BEI LIEFERUNG SOFORT EINSATZFÄHIG**.

Schritt 1 Vorbereitung: Kennzeichnen Sie drei Vertiefungen als negative Kontrolle (**z. B. B1, C1, D1**), zwei Vertiefungen als positive Kontrolle (**z. B. E1, F1**) und eine leere Vertiefung (**z. B. A1**), wobei weder die Proben noch das HRP-Konjugat in die leere Vertiefung gegeben werden sollten). Wenn die Ergebnisse durch die Verwendung doppelter Wellenlängen-Plattenlesegeräte bestimmt werden, wird keine leere Vertiefung benötigt. Verwenden Sie nur die Anzahl an Streifen, die für den Test erforderlich sind.

Schritt 2 Verdünnungsmittel hinzufügen: Geben Sie **100 µl** des Probenverdünnungsmittels in jede Vertiefung, mit Ausnahme der leeren Vertiefung.

Schritt 3 Probe hinzufügen: Geben Sie **10 µl** der positiven Kontrolle, negativen Kontrolle sowie der Probe in die entsprechenden Vertiefungen, mit Ausnahme der leeren Vertiefung. **Hinweis: Verwenden Sie eine separate Einweg-Pipettenspitze für jede Probe, negative Kontrolle sowie positive Kontrolle, um eine Kreuzkontamination zu verhindern.** Mischen Sie dies durch sanftes Klopfen der Platte.

Schritt 4 Inkubation: Decken Sie die Platte mit der Plattenabdeckung ab und inkubieren Sie diese **30 Minuten lang bei 37°C**.

Schritt 5 Waschen: Nehmen Sie am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung ab und entsorgen Sie diese. Waschen Sie jede Vertiefung **5 Mal** mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie den Waschpuffer jedes Mal **30 - 60 Sekunden** lang in den Vertiefungen einwirken. Legen Sie die Platte nach dem letzten Waschzyklus auf Löschpapier oder einem sauberen Handtuch ab und klopfen Sie diese ab, um jegliche Rückstände zu entfernen.

Schritt 6 Hinzufügen des HRP-Konjugats: Geben Sie **100 µl** des HRP-Konjugats in jede Vertiefung, mit Ausnahme der leeren Vertiefung.

Schritt 7 Inkubation: Decken Sie die Platte mit der Plattenabdeckung ab und inkubieren Sie diese **30 Minuten lang bei 37°C**.

Schritt 8 Waschen: Nehmen Sie am Ende der Inkubation die Plattenabdeckung ab und entsorgen Sie diese. Waschen Sie jede Vertiefung **5 Mal** mit verdünntem Waschpuffer. Lassen Sie den Waschpuffer jedes Mal **30 - 60 Sekunden** lang in den Vertiefungen einwirken. Legen Sie die Platte nach dem letzten Waschzyklus auf Löschpapier oder einem sauberen Handtuch ab und klopfen Sie diese ab, um jegliche Rückstände zu entfernen.

Schritt 9 Färbung: Geben Sie **50 µl** der Chromogen-Lösung A und anschließend **50 µl** der Chromogen-Lösung B in jede Vertiefung, einschließlich der leeren Vertiefung, und mischen Sie diese vorsichtig. Inkubieren Sie die Platte **15 Minuten lang bei 37°C, unter Vermeidung von Lichteinstrahlung**. Die enzymatische Reaktion zwischen den Chromogen-Lösungen und dem HRP-Konjugat produziert eine blaue Farbe in der positiven Kontrolle und in den HEV-IgM-positiven Vertiefungen.

Schritt 10 Stoppreaktion: Geben Sie mit einer Multikanal-Pipette oder manuell **50 µl** Stopp-Lösung in jede Vertiefung und mischen Sie diese vorsichtig. In der positiven Kontrolle und in den HEV-IgM-positiven Probenvertiefungen bildet sich eine intensive gelbe Farbe.

Schritt 11 Messung der Absorption: Kalibrieren Sie das Plattenlesegerät mit der leeren Vertiefung und lesen Sie anschließend die Absorption bei **450 nm** ab. Wenn ein duales Filterinstrument verwendet wird, stellen Sie die Referenzwellenlänge auf **600-650 nm** ein. Berechnen Sie den Grenzwert und bewerten Sie die Ergebnisse. (**Hinweis:** Lesen Sie die Absorption innerhalb von 10 Minuten nach dem Anhalten

der Reaktion ab).

ANWEISUNGEN FÜR DAS WASCHEN

- Ein gutes Waschverfahren ist essentiell, um korrekte und präzise analytische Daten zu erhalten.
- Es wird daher empfohlen, ein qualitativ hochwertiges ELISA-Mikroplatten-Waschgerät zu verwenden, das die höchstmögliche Waschleistung bietet. Allgemein sind nicht weniger als **5 automatische Waschzyklen mit 350-400 µl/Vertiefung** ausreichend, um falsch positive Reaktionen und einen hohen Hintergrund zu vermeiden.
- Um Kreuzkontaminationen der Platte mit Proben oder HRP-Konjugat zu vermeiden, darf der Inhalt der Vertiefungen nicht entsorgt werden; es muss ermöglicht werden, dass das Plattenwaschgerät diese automatisch absaugt.
- Stellen Sie sicher, dass die Dosierkanäle für die Mikroplatten-Waschflüssigkeit nicht verstopft oder kontaminiert sind und dass jedes Mal eine ausreichende Menge an Waschpuffer in die Vertiefungen abgegeben wird.
- Bei einer manuellen Wäsche empfehlen wir die Durchführung von **5 Waschzyklen**, das Dispensieren von **350-400 µl/Vertiefung** sowie die **5-malige** Absaugung der Flüssigkeit. Wenn schlechte Ergebnisse (hoher Hintergrund) festgestellt werden, sind die Waschzyklen oder die Einwirkzeit pro Vertiefung zu steigern.
- In jedem Fall sollte die Flüssigkeit, die aus den Streifen abgesaugt wird, mit einer Natrium-Hypochloridlösung bei einer finalen Konzentration von 2,5 % 24 Stunden lang behandelt werden, bevor diese auf angemessene Weise entsorgt werden.
- Der konzentrierte Waschpuffer sollte vor der Verwendung in einem Verhältnis von **1 zu 20** verdünnt werden. Wenn weniger als eine ganze Platte verwendet wird, ist das proportionale Volumen der Lösung vorzubereiten.

QUALITÄTSKONTROLLE UND BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Jede Mikroplatte sollte separat berücksichtigt werden, denn die Ergebnisse der Untersuchung berechnet und ausgelegt werden, ungeachtet der Anzahl an aktuell verarbeiteten Platten. Die Ergebnisse werden berechnet, indem jeder Probenabsorptionswert (A) auf den Grenzwert (Cut-Off Value, C.O.) der Platte bezogen wird. Wenn die Grenzwertablesung auf einem einzelnen Filterplattenlesegerät basiert, sind die Ergebnisse zu berechnen, indem der A-Wert der leeren Vertiefung von den Druckberichtwerten der Proben und Kontrollen abgezogen wird. Wenn die Ablesung auf dem dualen Filterplattenlesegerät basiert, darf der A-Wert der leeren Vertiefung nicht von den Druckberichtwerten der Proben und Kontrollen abgezogen werden.

Berechnung des Grenzwerts (C.O.) = Nc + 0,26
(Nc = der durchschnittliche Absorptionswert von drei negativen Kontrollen).

Qualitätskontrolle (Validierung der Untersuchung): Die Testergebnisse sind gültig, wenn die Kriterien der Qualitätskontrolle erfüllt wurden. Es wird empfohlen, dass jedes Labor entsprechende Qualitätskontrollsysteme erstellt, die Qualitätskontrollmaterialien umfassen, die ähnlich den oder identisch mit den analysierten Patientenproben sind.

- Der A-Wert der leeren Vertiefung, die nur Chromogen und Stopp-Lösung enthält, ist < 0,080 bei 450 nm.
- Die A-Werte der positiven Kontrollen müssen sich auf ≥ 0,800 bei 450/600-650 nm oder bei 450 nm nach dem Leeren belaufen.
- Die A-Werte der negativen Kontrollen müssen sich auf ≤ 0,100 bei 450/600-650 nm oder bei 450 nm nach dem Leeren belaufen.

Wenn einer der A-Werte der negativen Kontrolle die Kriterien für die Qualitätskontrolle nicht erfüllt, ist dieser zu entsorgen, und der Durchschnittswert sollte anhand der verbleibenden beiden Werte berechnet werden. Wenn mehr als ein A-Wert der negativen Kontrolle die Spezifikationen hinsichtlich des Qualitätskontrollbereichs nicht erfüllt, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Beispiel:

1. Qualitätskontrolle

Wert A der leeren Vertiefung: A1= 0,025 bei 450 nm (Hinweis: ein Leeren ist nur erforderlich, wenn mit einem einzelnen Filter bei 450 nm abgelesen wird)

Vertiefung Nr.:

	B1	C1	D1
Negative Kontrolle, A-Werte nach dem Leeren:	0,012	0,010	0,011

Vertiefung Nr.:

	E1	F1
Positive Kontrolle, A-Werte nach dem Leeren:	2,363	2,436

Alle Kontrollwerte liegen im angegebenen Qualitätskontrollbereich

2. Berechnung von Nc: = $\frac{0,012+0,010+0,011}{3} = 0,011$

3. Berechnung des Grenzwerts: (C.O.) = $0,011 + 0,26 = 0,271$

ERGEBNISAUFLÖSUNG

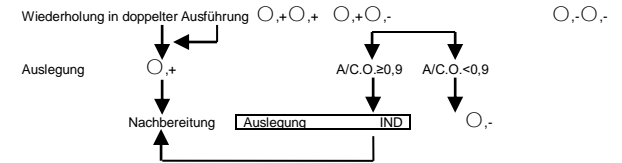
Negative Ergebnisse (A / C.O. < 1): Proben, die A-Werte ausgeben, die unter dem Grenzwert liegen, sind für diese Untersuchung negativ, was darauf hindeutet, dass keine HEV-IgM-Antikörper mit dem WANTAI HEV IgM ELISA erfasst wurden; daher gibt es keine serologischen Anzeichen für eine HEV-Infektion.

Positive Ergebnisse (A / C.O. ≥ 1): Proben, die einen A-Wert geben, der gleich oder größer als der Grenzwert ist, gelten anfänglich als reaktiv, was darauf hindeutet, dass mit dem WANTAI HEV IgM ELISA wahrscheinlich HEV-IgM-Antikörper entdeckt wurden. Die erneute Prüfung in doppelter Ausführung von jeglichen anfänglich reaktiven Proben wird empfohlen. Wiederholt reaktive Proben könnten für Antikörper zu HEV-IgM als positiv gelten; daher ist der Patient wahrscheinlich mit HEV infiziert.

Grenzwert (A / C.O. = 0,9-1,1): Proben mit einem A-Wert- zu Grenzwert-Verhältnis von zwischen 0,9 und 1,1 gelten als grenzwertig, und eine erneute Prüfung dieser Proben in doppelter Ausführung ist erforderlich, um die anfänglichen Ergebnisse zu bestätigen.

Eine Nachbereitung, Bestätigung sowie ergänzende Tests aller positiven Proben mit einem anderen analytischen System (z. B. PCR) sind erforderlich. Klinische Diagnosen sollten nicht basierend auf nur einem einzigen Testergebnis erstellt werden. Diese sollten klinische oder andere laboratorische Daten und Ergebnisse beinhalten.

AUSLEGUNG DER ERSTEN ERGEBNISSE UND NACHBEREITUNG ALLE ANFÄHLICH REAKTIVEN ODER GRENZWERT-PROBEN



IND = nicht interpretierbar

- Wenn, nach der erneuten Prüfung der anfänglich reaktiven Proben, beide Vertiefungen ein negatives Ergebnis liefern (A/C.O.<0,9), gelten diese Proben als nicht wiederholbar positiv (oder falsch positiv) und als negativ aufgezeichnet. Wie mit zahlreichen weiteren, extrem empfindlichen ELISA-Untersuchungen auch, können falsch positive Ergebnisse aus mehreren Gründen auftreten, von denen die meisten, jedoch nicht alle, mit einem unzureichenden Waschen verbunden sind. Weitere Informationen finden Sie in der Anleitung zur Fehlerbehebung des Wantai ELISA.
- Wenn nach einer doppelten Prüfung eine oder beide Vertiefungen positive Ergebnisse haben, sollte das Endergebnis von diesem ELISA-Test als wiederholt reaktiv aufgezeichnet werden. Wiederholt reaktive Proben könnten für Antikörper zu HEV-IgM als positiv gelten; daher ist der Patient wahrscheinlich mit HEV infiziert.
- Nach einer erneuten doppelten Prüfung sind Proben mit Werten, die nahe am Grenzwert liegen, mit Vorsicht auszuwerten und gelten als „Grenzwertbereichsprobe“ oder für den Zeitpunkt der Prüfung als nicht auslegbar.

LEISTUNGSMERKMALE

Spezifität: Die Spezifität des WANTAI HEV IgM ELISA wurde in 11 Gruppen ohne Hepatitis E (dies schloss Hepatitis-A-Fälle, Hepatitis-B-Fälle, Hepatitis-C-Fälle, mit einem HBV-Impfstoff geimpfte Gruppen, Populationen mit Routinetests auf das Virus, Blutspender und gesunde Personen ein). Jede Probengruppe umfasste mindestens 150 Mitglieder, wobei die größten Testgruppen 7113 Teilnehmer aufwiesen. Die Spezifität lag zwischen 95,3 %–100,0 %.

Testzentrum	Testgruppen	Proben	Pos. Anzahl	Spezifität (%)
1	Akute Hepatitis A	168	1	99,4
	Akute Hepatitis B	164	1	99,4
	Hepatitis C	168	4	97,6
	Gegen HBV geimpft	871	25	97,1
	Routine-Virus-Testgruppe	445	3	99,3
2	Gesunde Personen	273	0	100,0
	Akute Hepatitis A	298	14	95,3
3	Blutspender	7113	124	98,3
4	Gesunde Personen	883	1	99,9
	Gesunde Population	388	1	99,7
5	Blutspender	355	3	99,2
	Gesunde Personen	9012	129	98,6
Gesamt	Andere Gruppen	2114	48	97,7
	Gesamt	11126	177	98,4

- Es ließ sich keine Interferenz von Rheumafaktoren von bis zu 2000 U/ml beobachten.
- Die Leistungsmerkmale des Verfahrens werden von erhöhten Bilirubinkonzentrationen (bis zu 1,71 mmol/l), Hämoglobinkonzentrationen (bis zu 400 mg/l) und Triglyceridkonzentrationen (bis zu 170 mmol/l) nicht beeinträchtigt.
- Es wurden gefrorene positive/negative Proben getestet, um sie auf Interferenzen aufgrund von Entnahme und Lagerung zu überprüfen. Die Leistungsmerkmale des WANTAI HEV IgM ELISA wurden nicht beeinträchtigt.
- Es wurden Panels mit Proben mit erhöhten Anti-E. coli-Antikörpern, Proben von Schwangeren und Personen mit Autoimmunerkrankungen getestet. Die Leistungsmerkmale des WANTAI HEV IgM ELISA wurden nicht beeinträchtigt.

Empfindlichkeit: Bei der Bewertung von 126 Serien-Serumproben, die von 31 Hepatitis-E-Patienten erhalten wurden

(Testzentrum 3), lag die Empfindlichkeit des WANTAI HEV IgM ELISA für die erste Serumprobe und die Serienproben bei 100 % beziehungsweise 97,62 %, während die Empfindlichkeit des Referenz-HEV-IgM-Tests 90,32 % beziehungsweise 86,51 % betrug.

Mit 202 Hepatitisproben, nicht Hepatitis A und nicht Hepatitis B, wurden parallel Vergleichstests durchgeführt (Testzentrum 1). Da es für Hepatitis E keinen goldenen Standard gibt, diente das Referenz-HEV-IgM-Verfahren als Kontrollreagenz. Die Konkordanzrate zwischen dem WANTAI HEV IgM ELISA und dem Referenz-IgM-Verfahren betrug 83,66 %. Würde für einen der beiden in dieser Studie verwendeten Tests der Status „echt positiv“ als positiv definiert, lag die Empfindlichkeit des WANTAI HEV IgM ELISA und des Referenz-HEV-IgM bei 96,43 % beziehungsweise bei 80 %.

Zusammenfassung Empfindlichkeit: Die Empfindlichkeit des WANTAI HEV IgM ELISA lag bei 97,1 % (95 % Konfidenzintervall: 94,6 %-98,5 %) bei Paralleltests von insgesamt 314 Serumproben mit akuter Hepatitis E, was ein signifikant höheres Ergebnis war als bei den Referenz-HEV-IgM-Tests (81,5 %, 95 % Konfidenzintervall: 76,9 %-85,4 %) und dem Referenz-HEV-IgG-Test (93,8 %, 95 % Konfidenzintervall: 83,1 %-97,7 %).

Test-Zentrum	Proben	WANTAI HEV IgM ELISA		Referenz-HEV-IgM-ELISA		Referenz-HEV-IgG-ELISA	
		Pos.	Positivrate	Pos.	Positivrate	Pos.	Positivrate
1	140	135	96,4 %	112	80,0 %		
2	48	47	97,9 %	35	72,9 %	45	93,8 %
3	126	123	97,6 %	109	86,5 %		
Gesamt	314	305	97,1 %	256	81,5 %	45/48	93,8 %

EINSCHRÄNKUNGEN

- Positive Ergebnisse müssen mit anderen verfügbaren Verfahren bestätigt und in Verbindung mit den klinischen Informationen zum Patienten ausgelegt werden.
- Antikörper können während der frühen Phasen der Erkrankung sowie in immunsupprimierten Personen nicht erkennbar sein. Daher sind negative Ergebnisse, die mit dem WANTAI HEV IgM ELISA erhalten werden, nur eine Indikation, dass die Probe keine nachweisbare Spur an HEV-IgM-Antikörpern enthält, und jegliche negativen Ergebnisse sollten nicht als beweiskräftiger Nachweis angesehen werden, dass die Person nicht mit HEV infiziert ist.
- Wenn nach einer erneuten Prüfung der anfänglich reaktiven Proben die Untersuchungsergebnisse negativ sind, sollten diese Proben als nicht wiederholbar (falsch positiv) angesehen und als negativ ausgelegt werden. Wie mit zahlreichen weiteren, extrem empfindlichen ELISA-Untersuchungen auch, können falsch positive Ergebnisse aus mehreren Gründen auftreten, von denen die meisten, jedoch nicht alle, mit einem unzureichenden Auswaschen verbunden sind. Weitere Informationen finden Sie in der Anleitung zur Fehlerbehebung des Wantai ELISA; alternativ können Sie den technischen Support von Wantai kontaktieren, wenn Sie weitere Hilfe benötigen.
- Die häufigsten Fehler bei einer Untersuchung sind: die Verwendung von Kits nach dem Ablaufdatum, mangelhaftes Waschverfahren, kontaminierte Reagenzien, falsche Untersuchungsverfahrensschritte, unzureichende Absaugung beim Waschen, Säumnis, Proben oder Reagenzien hinzuzufügen, falsche Verwendung der Laborausrüstung, Fehler bei der Zeitplanung, Verwendung von hochgradig hämolytierten Proben oder von fibrinhaltigen Proben, nicht vollständig geronnene Serumproben.
- Die Prävalenz des Markers wirkt sich auf die prädiktiven Werte der Untersuchung aus.
- Das Kit ist AUSSCHLIESSLICH für das Testen von individuellen Serum- oder Plasmaproben vorgesehen. Verwenden Sie es nicht für das Testen von Kadaverproben, Speichel, Urin oder anderen Körperflüssigkeiten oder Poolblutproben.
- Beim Kit handelt es sich um einen qualitativen Test, und die Ergebnisse können nicht verwendet werden, um die Antikörperkonzentration zu messen.

REFERENZEN

- Zhang J, et al. Two Hepatitis E Virus Neutralization Sites analyzed by monoclonal antibodies raised against a recombinant peptide of virus capsid protein. J Virol 2003 (akzeptiert)
- Zhang J, et al. Evaluation of antibody based and nucleic acid based assays for diagnosis of hepatitis E virus infection in a rhesus monkey model. J Med Virol 2003;71(4):518-26
- Zhang JZ, et al. Conformational Antigenic Determinants Generated by Interactions Between a Bacterially Expressed Recombinant Peptide of the Hepatitis E Virus Structural Protein. J Med Virol 2001;64:125-132
- Stanley W.K. Im, et al. A bacterially expressed peptide prevents experimental infection of primates by the hepatitis E virus. Vaccine 2001;19:3726-3732
- Zhang JZ, et al. Occurrence of Hepatitis E Virus IgM, Low Avidity IgG Serum Antibodies, and Viremia in Sporadic Cases of Non-A, -B, and -C Acute Hepatitis. J Med Virol 2002;66:40-48
- Ma Y, et al. Expression of ORF2 partial gene of hepatitis E virus in tomatoes and immunoactivity of the expression products. World J Gastroenterol 2003 9(10):2211-5
- Wang YC, et al. Prevalence, Isolation, and Partial Sequence Analysis of Hepatitis E Virus From Domestic Animals in China. J Med Virol 2002;67:516-521
- Acharya SK, Dasarathy S, Kumer TL, et al. Fulminant hepatitis in a tropical population: Clinical course, cause, and early predictors of outcome. Hepatology 1996;23:1448-1455
- Anderson DA, Li F, Riddell M, Howard T, Seow HF, Torresi J, Perry G, Sumarsidi D, Shrestha SM, Shrestha IL. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in Escherichia coli. J Virol Methods. 1999 Aug;81(1-2):131-42
- Cao X-Y, Ma X-Z, Liu Y-Z, et al. Epidemiological and etiological studies on enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in the south part of Xinjiang. In: Shikata T, Purcell RH, Uchida T, Hg. Viral Hepatitis C, D, and E. New York: Elsevier Science, 1991:297-312
- Careda F, Antinori S, Re T, et al. Clinical features of sporadic non-A, non-B hepatitis possibly associated with faecal-oral spread. Lancet 1985;ii:444-445

- CDC. Hepatitis E among U.S. travelers, 1989-1992. Morb Mortal Wkly Rep 1993;42:1-4
- Chau KH, Dawson GJ, Bile KM, et al. Detection of IgA class antibody to hepatitis E virus in serum specimens from patients with hepatitis E virus infection. J Med Virol 1993;40:334-338
- Chauhan A, Jameel S, Dilawari JB, et al. Hepatitis E virus transmission to a volunteer. Lancet 1993;341:149-150
- Torresi J, Li F, Locamini SA, et al. Only the non-glycosylated fraction of hepatitis E virus capsid (open reading frame 2) protein is stable in mammalian cells. J Gen Virol 1999;80:1185-1188
- Tsarev S, Tsarev T, Emerson S, et al. ELISA for antibody to hepatitis E virus based on complete open reading frame -2 protein expressed in insect cells: identification of HEV infection in primates. J Infect Dis, 1993;168:369-378
- Tsarev SA, Emerson SU, Reyes GR, et al. Characterization of a prototype strain of hepatitis E virus. Proc Natl Acad Sci U S A 1992;89:559-563

EC REP

Qarad b.v.b.a.
Cipalstraat 3, B-2440 Geel, Belgium
E-Mail: qarad@qarad.com



ZUSAMMENFASSUNG DER HAUPTKOMPONENTEN DES KITS:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz; befolgen Sie stets das Informationsblatt über das entsprechende Verfahren, wenn Sie den Test durchführen. Hinweis: Die Komponenten der einzelnen Kits sind nicht untereinander austauschbar.

1. Mikrotiterplatte	Code 5	eine
2. Negative Kontrolle	Code 8	1x 0,5 ml
3. Positive Kontrolle	Code 7	1x 0,5 ml
4. HRP-Konjugat	Code 6	1x 12 ml
5. Probenverdünnungsmittel	Code 9	1x 12 ml
6. Waschpuffer	Code 1	1x 50 ml
7. Chromogenlösung A	Code 2	1x7 ml
8. Chromogenlösung B	Code 3	1x7 ml
9. Stopp-Lösung	Code 4	1x7 ml

ZUSAMMENFASSUNG DES TESTVERFAHRENS:

Verwenden Sie diese Zusammenfassung nur als Referenz; befolgen Sie stets das Informationsblatt über das entsprechende Verfahren, wenn Sie den Test durchführen.

Probenverdünnungsmittel hinzufügen	100µl
Probe hinzufügen	10µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
HRP-Konjugat hinzufügen	100µl
Inkubieren	30 Minuten
Waschen	5 Mal
Färben	50µl A + 50µl B
Inkubieren	15 Minuten
Reaktion stoppen	50µl Stopp-Lösung
Absorption ablesen	450 nm oder 450/600-650 nm

BEISPIELSCHEMA FÜR DIE ABGABE VON KONTROLLEN/PROBEN:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Leer	S3										
B	Neg.	...										
C	Neg.	...										
D	Neg.											
E	Pos.											
F	Pos.											
G	S1											
H	S2											

SYMBOLE DER CE-KENNZEICHNUNG:

	Medizinisches Gerät für die In-Vitro-Diagnose		+2°C-+8°C Lagerungsbedingungen
	Verwendbar bis		Charge
	Inhalt für <n> Tests ausreichend		Gebrauchsanweisungen
	CE-Kennzeichnung – IVDD 98/79/EC		Bevollmächtigter EU-Vertreter
	Katalognummer		Hersteller

Beijing Wantai Biological Pharmacy Enterprise Co., Ltd.
No.31 Kexueyuan Road, Changping District, Beijing 102206, China
Tel: +86-10-59528888, Fax: +86-10-89705849
Website: www.ystwt.com
E-Mail: wtexport@ystwt.com

Version: V. 2016-01 [Eng.]
Veröffentlichungsdatum: 28.
September 2016
Revisionsnummer: Revision 7