



# 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](mailto:mail@szabo-scandic.com)

[www.szabo-scandic.com](http://www.szabo-scandic.com)

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

Gebrauchsinformation

**BIOGNOST® BARTONELLA HENSELAE ANTIKÖRPER NACHWEIS**

INDIREKTE IMMUNFLUORESZENZTESTS zum Nachweis von IgG und IgM ANTIKÖRPERN gegen BARTONELLA HENSELAE in humanem Serum

Testkit für 60 IgG Bestimmungen, Best.Nr. BH-16060  
Testkit für 120 IgG Bestimmungen, Best.Nr. BH-16120  
Testkit für 60 IgM Bestimmungen, Best.Nr. BH-1606M  
Testkit für 120 IgM Bestimmungen, Best.Nr. BH-1612M

Alle Reagenzien der Testkits und weitere Reagenzien für den Nachweis von Antikörpern gegen Bartonella henselae sind auch einzeln erhältlich.

Testdauer: ca. 90-120 min

**BESTIMMUNGSGEMÄßER GEBRAUCH**

Die Biognost® Bartonella henselae Ak Nachweise sind indirekte Immunfluoreszenztests für die qualitative und/oder semi-quantitative Bestimmung von IgG und IgM Antikörpern gegen Bartonella henselae in humanem Serum. Die Biognost® Bartonella henselae Ak IFTs sind zum Einsatz in der Diagnostik der Katzenkratzkrankheit bestimmt.

**EINFÜHRUNG**

Das klinische Syndrom "Katzenkratzkrankheit" wurde bereits zu Beginn der dreißiger Jahre beschrieben. Bei einem typischen Krankheitsverlauf entwickelt sich zuerst, meistens in der Nähe von Kratzverletzungen durch Katzen, eine Entzündung in Form einer nicht juckenden und nicht eitrigen Pustel. Darauf folgt eine Schwellung und Entzündung der regionalen Lymphknoten. Diese Lymphadenitis ist ein charakteristisches Symptom der Katzenkratzkrankheit. Bei histologischen Untersuchungen zeigen die entzündeten Lymphknoten ein für die Katzenkratzkrankheit typisches Bild (Hyperplasie der Reticulum-Zellen, Granulome, Bildung von Mikroabszessen und Eiter). Bei vielen Patienten ist diese Phase von Fieber und Unwohlsein begleitet. Seltener können auch Symptome wie Ausschlag, Pneumonitis, Konjunktivitis, Hepatomegalie oder Enzephalitis auftreten. Üblicherweise dauert die Erkrankung 2-4 Monate und heilt spontan aus. Es gibt aber auch Berichte über wesentlich länger andauernde Erkrankungen und über schwere Verläufe mit starken Komplikationen.

Aufgrund der klinischen und epidemiologischen Gegebenheiten wurde schon immer eine Infektion als Ursache der Katzenkratzkrankheit vermutet. Bei den meisten Patienten lässt sich in der Anamnese ein Kontakt zu Katzen feststellen, bei etwa 60% geht direkt eine Verletzung durch Katzen voraus. Auch eine Übertragung durch Katzenflöhe wird diskutiert.

In letzter Zeit wurden zwei Bakterien isoliert, die mit der Katzenkratzkrankheit in Verbindung gebracht werden, Afipia felis und Bartonella henselae. Bartonella henselae wurde zuerst als Erreger von bakterieller Angiomatose und Poliosis hepatis beschrieben, Krankheitsbilder die bei AIDS-Patienten auftreten können. Und auch die Mehrheit der Katzenkratzkrankheitsfälle sind auf Bartonella henselae zurückzuführen. Eine Beteiligung von Afipia felis wird immer unwahrscheinlicher. Dies wird auch durch serologische Studien nahegelegt, in denen bei etwa 90% der Patienten mit vermuteter Katzenkratzkrankheit erhöhte Titer gegen Bartonella henselae gefunden wurden. Erste Studien im deutschen Raum zeigen eine Durchseuchung von über 10% der Hauskatzen mit Bartonella henselae.

Neuere Basensequenz-Untersuchungen phylogenetisch konservativer Abschnitte der 16S rRNS-Region und andere Eigenschaften bei rickettsienartigen Bakterien belegen eine enge Verwandtschaft zwischen den Rochalimaea- und Bartonella-Species und führten zur gemeinsamen Eingruppierung der Arten B. quintana, B. vinsonii, B. henselae und B. elizabethae in die Gattung Bartonella (Familie Bartonellaceae, Ordnung Rickettsiales).

**TESTPRINZIP**

Der Test basiert auf der klassischen Methode der indirekten Immunfluoreszenz. Die Substratobjektträger sind mit Antigen beschichtet. Im ersten Schritt wird Patientenserum auf den Objektträger aufgebracht und inkubiert. Falls im Serum Antikörper gegen das nachzuweisende Antigen vorhanden sind, werden diese gebunden. Unspezifische Antikörper, sonstige Proteine usw. werden durch einen Waschschrift entfernt. Um eine Beschädigung oder das Ablösen des Antigens zu vermeiden, darf während des Waschens nicht gerührt werden. Nach Auftragen des entsprechenden FITC markierten Antihumanimmunglobulins (Konjugat) und erneuter Inkubation im zweiten Schritt wird nochmals gewaschen, um überschüssiges Konjugat zu entfernen. Der Komplex Antigen / humane Antikörper / Konjugat ist dann unter einem Fluoreszenzmikroskop bei 400-500facher Vergrößerung sichtbar.

Beim Nachweis von IgM und/oder IgA Antikörpern wird ein Trennsystem (Biosorb®) zur Absorption von IgG und Rheumafaktoren dem ersten Schritt vorgeschaltet.

Enthält das zu untersuchende Serum keine Antikörper gegen das entsprechende Antigen, so unterbleibt die Bildung spezifischer Antigen-Antikörper-Komplexe. Unter dem Mikroskop sind dann auch keine spezifischen Fluoreszenzmuster beobachtbar.

**GRENZEN DER METHODE**

Die Nachweise mittels indirekter Immunfluoreszenztechnik weisen qualitativ die jeweiligen Antikörper nach. Der individuelle Antikörpertiter eines Patienten kann nicht als Maß für die Schwere der Erkrankung gesehen werden, da Antikörper von verschiedenen Patienten unterschiedliche Affinitäten aufweisen können. Deshalb ist eine absolute Standardisierung der Ergebnisse schwierig. Andererseits ist dieser Nachteil nämlich die (theoretisch) optimale Breite des Antigenangebots, der größte Vorteil dieser Methode. Indirekte Immunfluoreszenztests sind gute Screening Tests.

Durch den Einsatz positiver Kontrollen, bei denen die Titer angegeben sind, ist eine semiquantitative Aussage möglich. Das Testergebnis sollte nicht als alleinige Basis zur Beurteilung des klinischen Bildes verwendet werden, er sollte immer im Gesamtzusammenhang (klinische Symptomatik, Zeitpunkt der Probenahme, andere Laborwerte, Hersteller und eigener Referenzbereich etc.) und in Kombination mit anderen verfügbaren Patientendaten gesehen werden.

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

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

Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/78020599-0/-40, e-mail: [bios@bios-world.com](mailto:bios@bios-world.com), Biosite® [www.bios-world.com](http://www.bios-world.com)

**INHALT DER TESTKITS UND SONSTIGE TESTREAGENZIEN\*****1. TESTKITS**

**Best.Nr. BH-16060:** Biognost® Bartonella henselae IgG IFT; 60 Bestimmungen: 10 Objektträger mit 6 Auftragstellen; 0,3 ml IgG positive Kontrolle; 0,5 ml negative Kontrolle; 2 ml IgG Konjugat mit Evans blue; 1,5 ml Einschlussmedium; 2x 10 g PBS Puffer Festsubstanz; 15 Deckgläser.

**Best.Nr. BH-16120:** Biognost® Bartonella henselae IgG IFT: 120 Bestimmungen: 10 Objektträger mit 12 Auftragstellen; 0,3 ml IgG positive Kontrolle; 0,5 ml negative Kontrolle; 3 ml IgG Konjugat mit Evans blue; 1,5 ml Einschlussmedium; 2x 10 g PBS Puffer Festsubstanz; 15 Deckgläser.

**Best.Nr. BH-1606M:** Biognost® Bartonella henselae IgM IFT; 60 Bestimmungen: 10 Objektträger mit 6 Auftragstellen; 0,2 ml IgM positive Kontrolle; 0,5 ml negative Kontrolle; 2 ml IgM Konjugat mit Evans blue; 1,5 ml Einschlussmedium; 2x 10 g PBS Puffer Festsubstanz; 15 Deckgläser.

**Best.Nr. BH-1612M:** Biognost® Bartonella henselae IgM IFT: 120 Bestimmungen: 10 Objektträger mit 12 Auftragstellen; 0,2 ml IgM positive Kontrolle; 0,5 ml negative Kontrolle; 3 ml IgM Konjugat mit Evans blue; 1,5 ml Einschlussmedium; 2x 10 g PBS Puffer Festsubstanz; 15 Deckgläser.

**2. EINZELREAGENZIEN****2a. Objektträger:**

**Best.Nr. BH-1606 bzw. Best.Nr. BH-1612:** Biognost® Bartonella henselae Objektträger; beschichtet mit HEp-2 Zellen, intrazellulär infiziert mit Bartonella henselae (Houtson Stamm, ATCC 19882); ausgetestet für den IgG und IgM Nachweis (die Eignung für den IgA Nachweis ist nicht ausgeschlossen); 6 bzw. 12 Auftragstellen.

**2b. Positive Kontrolle:**

**Best.Nr. BH-1601:** Biognost® Bartonella henselae IgG positive Kontrolle; stabilisiertes Humanserum, enthält IgG Antikörper gegen Bartonella henselae, gebrauchsfertig, Titerangabe auf dem Etikett; 0,3 ml.

**Best.Nr. BH-1602:** Biognost® Bartonella henselae IgM positive Kontrolle; stabilisiertes Humanserum, enthält IgM Antikörper gegen Bartonella henselae, gebrauchsfertig, Titerangabe auf dem Etikett; 0,2 ml.

**2c. Negative Kontrolle** - verwendbar für alle Biognost® infektionsserologischen Immunfluoreszenztests:

**Best.Nr. 1111I:** Biognost® und Biosave® negative Kontrolle für die Infektionsserologie; stabilisiertes Humanserum, enthält keine Antikörper gegen infektionsserologische Antigene (IgG, IgM, IgA), gebrauchsfertig; 0,5 ml.

**2d. Konjugate** - verwendbar für alle Biognost® infektionsserologischen Immunfluoreszenztests:

**Best.Nr. 1501G; Best.Nr. 15301G bzw. Best.Nr. 151001G:** Biognost® IgG Konjugat; Antihumanimmunglobulin G, FITC markiert, mit Evans blue Gegenfärbung, gebrauchsfertig; 2 ml, 3 ml bzw. 10 ml.

**Best.Nr. 1501M, Best.Nr. 15301M bzw. Best.Nr. 151001M :** Biognost® IgM Konjugat; Antihumanimmunglobulin M, FITC markiert, mit Evans blue Gegenfärbung, gebrauchsfertig; 2 ml; 3 ml bzw. 10 ml.

**2e. Sonstige Reagenzien** - verwendbar für alle Biognost® Immunfluoreszenztests:

**Best.Nr. 1605 bzw. Best.Nr. 1606:** Biognost® Phosphatpuffer; 4x 5 g bzw. 2x 10 g leicht lösliche PBS Puffer Festsubstanz zur Herstellung von jeweils 500 ml bzw. 1000 ml Pufferlösung; enthält 10 mM NaPhosphat, und 150 mM NaChlorid, pH 7,5.

**Best.Nr. 1610 bzw. Best.Nr. 161010:** Biognost® Einschlussmedium pH 7,5; gebrauchsfertig; 1,5 ml bzw. 10 ml.

**Best.Nr. 1706 bzw. Best.Nr. 17606:** Biognost® Saugpapierschablonen für Objektträger mit 6 Auftragstellen; 10 Stück bzw. 60 Stück.

**Best.Nr. 1712 bzw. Best.Nr. 17612:** Biognost® Saugpapierschablonen für Objektträger mit 12 Auftragstellen; 10 Stück bzw. 60 Stück.

**Best.Nr. 1700 bzw. Best.Nr. 17200:** Biognost® Deckgläser; 15 Stück bzw. 200 Stück.

**2f. IgG/IgM (IgG/IgA) Trennsysteme:**

**Best.Nr. 90-1048 bzw. Best.Nr. 90-1120:** Biosorb®; IgM (IgA) Isolierung mittels anti-human IgG Antiserum; IgM (IgA) Endverdünnung 1:5; 2 ml für ca. 48 Patientenproben (Trennungen) bzw. 5 ml für ca. 120 Patientenproben (Trennungen); Gebrauchsinformation Best.Nr. S0001tid.

**ZUSÄTZLICH ERFORDERLICHE MATERIALIEN**

Reaktionsgefäße zur Herstellung der Verdünnungsreihen

Pipetten (Bereich 1-1000 µl)

Vortex Mischer

Messkolben (500 ml bzw. 1000 ml) zur Herstellung des Phosphatpuffers

Destilliertes oder demineralisiertes Wasser

Feuchte Kammer

Brutschrank (37°C)

Färbetröge (möglichst groß)

Spritzflasche für PBS Puffer

Kurzzeitmesser

Dunkelfeld Fluoreszenzmikroskop mit trockenem Objektiv (ohne Immersionsöl zu benutzen) mit Filtern, für eine Anregungswellenlänge von 450-490 nm und eine Emission von 560-590 nm. Für eine höhere Empfindlichkeit ist ein Auflichtmikroskop einem Durchlichtmikroskop vorzuziehen.

## LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Objektträger, Kontrollen, Konjugate und Biosorb® müssen bei der jeweils auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Die Objektträger sind weiterhin wegen der Austrocknungs- und Denaturierungsgefahr im geschlossenen Aluminiumbeutel luftdicht verschweißt zu lagern. Bei vorschriftsmäßiger Lagerung sind die Reagenzien **ungeöffnet** bis zum Verfallsdatum haltbar. Nach Ablauf des Verfallsdatums sind sie nicht mehr zu verwenden.

Nach Anbruch müssen die Reagenzien wieder gut verschlossen und bei der auf dem Etikett angegebenen Temperatur gelagert werden. Sie sind dann schnellstmöglich zu verbrauchen. Der Verfall einer Charge definiert nicht die Haltbarkeit bei Wiederverwendung. Die PBS Puffer Festsubstanz ist bei Raumtemperatur und darunter **ungeöffnet**, d.h. im Aluminiumbeutel luftdicht verschweißt, unbegrenzt haltbar. Einschlussmedium, Saugpapierschablonen und Deckgläser sind bei Raumtemperaturlagerung oder niedrigerer Temperatur ebenfalls unbegrenzt haltbar. Das Verfallsdatum auf dem Etikett dient beim PBS Puffer, Einschlussmedium sowie bei den Saugpapierschablonen und Deckgläsern der Organisation der Lagerhaltung. Angesetzte PBS Pufferlösung (pH 7,5) ist am selben Tag zu verbrauchen, da sie kein Konservierungsmittel enthält. Bei Verwendung am nächsten Tag muss sie zwischenzeitlich bei 5-10°C verschlossen gelagert werden. PBS Pufferlösungen mit Schlieren-, Flocken- oder Trübungsbildung bzw. Farb- oder pH-Wert-Änderung sind zu verwerfen.

## SICHERHEITSHINWEISE

1. Alle im Punkt INHALT aufgeführten Kits und Reagenzien sind ausschließlich für die in vitro Diagnostik bestimmt.
2. Alle humanen Seren, die zur Herstellung der im Punkt INHALT aufgeführten Zubereitungen aus humanen Seren (Kontrollen) verwendet wurden, sind potentiell infektiös. Sie sollten mit der entsprechenden Vorsicht verwendet werden.
3. Kontrollen, Konjugate und Einschlussmedium enthalten 0,09% Natriumazid. Natriumazid ist giftig. Das Verschlucken und Haut- bzw. Schleimhautkontakt ist zu vermeiden. Natriumazidhaltige Reagenzien dürfen nicht mit kupfer- oder bleihaltigen Gegenständen in Verbindung gebracht werden (Bildung explosiver Salze).
4. Einige Konjugate enthalten Evans blue (auf dem Etikett angegeben). Evans blue könnte karzinogen sein (der Schweizer Giftklasse 1\* zugeordnet). Vermeiden Sie deshalb das Verschlucken sowie den Hautkontakt mit Evans blue haltigen Lösungen.
5. Sicherheitsbestimmungen der Berufsgenossenschaft und des jeweiligen Institutes (Labors) bezüglich biogefährdenden, giftigen und reizenden Stoffen sind strikt zu beachten (siehe Aushänge, Laborjournal, Sicherheitsbelehrung sowie die aus Zertifizierung bzw. Akkreditierung resultierenden Arbeitsvorschriften).
6. Die aktuellen Regeln der guten Laborpraxis (Good Laboratory Practice, GLP) sollten immer beachtet werden.
7. Nach der Testdurchführung sind alle im Test benutzten Reagenzien und Seren entsprechend den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen und der Arbeitsplatz zu desinfizieren.

## UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Als Untersuchungsmaterial kann Serum oder Plasma eingesetzt werden. Bei 5-10°C ist Serum/Plasma ca. 1 Woche haltbar. Für eine Lagerung und Mehrfachnutzung sollten Seren/Plasmen in kleinere Portionen (> 50 µl) aufgeteilt, in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bei ≤ -20°C eingefroren werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen von größeren Mengen an Seren/Plasmen kann zur Bildung von Proteinagregaten sowie zum Abbau von Serum/Plasmabestandteilen führen und ist deshalb zu vermeiden. Da Azid bei den durchzuführenden Untersuchungen nicht stört, wird Serum/Plasma aber auch durch Zugabe von 0,09% Azid für längere Zeit (≥ 1 Jahr) im Kühlschrank in der Regel ohne Analytverlust lagerfähig.

Beim IgM bzw. IgA Nachweis wird eine Vorbehandlung des Patientenserums notwendig, um Störeffekte durch Rheumafaktoren, welche das Vorhandensein von IgM vortäuschen können, und IgG Antikörper, welche die IgM/IgA Bindung kompetitiv hemmen können, zu vermeiden. Die Trennung der Antikörperklassen kann mit dem von Bios® erhältlichen gebrauchsfertigen Trennsystem Biosorb® durchgeführt werden (siehe Trennsysteme). Hierfür werden 1 Teil Patientenserum und 4 Teile Biosorb® zusammenpipettiert und durchmischt. Die Mischung lässt man 15 Minuten reagieren. Diese 1:5 Verdünnung kann dann unverdünnt oder mit PBS Puffer weiterverdünnt direkt in den Test eingesetzt werden. **Ein Zentrifugationsschritt ist nicht erforderlich.**

Obwohl für die IgG/IgM Trennung optimiert, kann Biosorb® auch zur Probenvorbehandlung bei IgA Bestimmungen verwendet werden. IgG Antikörper werden aus der Probe entfernt, während IgM und der größte Teil der IgA Antikörper in der Probe verbleiben. Durch die Vorbehandlung werden die Proben verdünnt. Der Verdünnungsfaktor von 1:5 ist bei der Herstellung der Testverdünnungen für den IgM bzw. IgA Nachweis zu berücksichtigen. Die Trennung sollte unmittelbar vor dem Testansatz erfolgen.

## QUALITÄTSKONTROLLE UND FEHLERSUCHE

Eine positive Kontrolle für jeden zu interpretierenden Parameter und eine negative Kontrolle sollten bei jedem Testlauf mitgeführt werden. Ergeben die Kontrollen nicht die auf dem Etikett angegebenen Ergebnisse, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Kann der auf dem Etikett der positiven Kontrolle angegebene Titer (± 1 bis 2 Verdünnungsstufen) im Anwenderlabor nicht reproduziert werden, so sollte überprüft werden, ob ausschließlich Biognost® Testreagenzien im Testansatz verwendet wurden oder z.B. andere Deckgläser, anderes Einschlussmedium, nicht frisch angesetzter Biognost® Puffer. Weiterhin muss überprüft werden, ob das benutzte Fluoreszenzmikroskop einwandfrei funktioniert; mögliche Fehlerquellen sind överschmutzte Objektive, Dejustierung oder eine zu schwache Lampe. Desweiteren ist zu prüfen, ob die Reagenzien richtig gelagert wurden bzw. bereits verfallen sind, ob die im Testansatz verwendete feuchte Kammer feucht genug ist, ob der Objektträger mit einem Filzstift beschriftet wurde (bitte nur harten Bleistift benutzen) etc. Auch sollten die Reagenzien auf keinen Fall durch Erhitzen auf Raumtemperatur gebracht werden.

Konjugate können durch die Pufferleerwertkontrolle auf eventuelle unspezifische Anfärbung des Substrates überprüft werden: Analog den Kontrollen oder den vorverdünnten Patientenseren wird auf eine Auftragstelle die entsprechende Menge PBS Pufferlösung aufgetragen und der üblichen Testdurchführung unterworfen.

Die Sensitivität und Spezifität dieses Tests unterliegt einer ständigen Überwachung durch das Bios® Kontrollabor. Bios® setzt alle verfügbaren WHO oder anderweitig definierten Kontroll- bzw. Serumstandards zur Teststandardisierung ein.

Die Biognost® positiven und negativen Kontrollen sind anhand der verfügbaren Standards oder Seren von klinisch charakterisierten Patienten bzw. Blutspendern kalibriert.

Eine Gewährleistung durch die Firma Bios® ist nur dann gegeben, wenn die Angaben der Gebrauchsinformation exakt eingehalten, im Test nachweislich nur Bios Produkte eingesetzt werden und der Test nur durch Fachpersonal durchgeführt wird.

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

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

**Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.**

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/78020599-0/-40, e-mail: [bios@bios-world.com](mailto:bios@bios-world.com), Biosite® [www.bios-world.com](http://www.bios-world.com)

## TESTDURCHFÜHRUNG

Die Biognost® Objektträger, Kontrollen und das Konjugat sind gebrauchsfertig, sobald sie sich auf Raumtemperatur erwärmt haben (ca. 5 min). Die Kontrollen und das Konjugat sind also unverdünnt zu benutzen.

Hinweise für die Benutzung von Biosorb® als IgG/IgM (IgG/IgA) Trennsystem sind im Punkt INHALT und in der Gebrauchsinformation Best.Nr. S0001tid zu finden. Die Biognost® Kontrollen sind soweit notwendig vortrennt. Sie sollen weder einer Trennung in Bezug auf Immunglobulinklassen noch gegebenenfalls einer Absorption unterzogen werden.

Die Biognost® Objektträger sind gebrauchsfertig fixiert. Die Substrate können bei einem weiteren Fixierschritt im Anwenderlabor zerstört werden.

Vor Beginn des Testansatzes sind die Seren entsprechend den Vorgaben (Screeninguntersuchung, Titration) mit PBS Pufferlösung oder einer Lösung aus PBS mit 1% Rinderserumalbumin zu verdünnen. Gebräuchliche Verdünnungsreihen sind: 1:2; 1:4; 1:8 etc. oder 1:5; 1:10; 1:20 etc.

Das Pipettierschema des Tagesansatzes muss vor Beginn des Testansatzes schriftlich in einem dafür vorgesehenen Formular festgelegt werden. Dieses Formular ist die Grundlage für die Interpretation der Ergebnisse und deren Dokumentation.

1. Objektträger vorsichtig aus der Alu-Verpackung nehmen (Einkerbung zum Aufreißen ist vorgestanzt!), ohne die Auftragstellen zu berühren. Zum Beschriften der Objektträger nur harten Bleistift, niemals Filzstift verwenden.

2. Kontrollen und vorverdünnte Patientenserum auf die Auftragstellen tropfen (flächendeckend, je nach Größe der Auftragstelle werden ca. 15-50 µl benötigt).

3. Objektträger in feuchter Kammer inkubieren:

**IgG Nachweis:** 30 min bei Raumtemperatur

**IgM/IgA Nachweis:** 30 min bei 37°C oder 60 min bei Raumtemperatur

Dabei vor direkter Sonneneinstrahlung schützen und Heizungsnähe meiden.

Die oben aufgeführten Zeit- und Temperaturangaben bezüglich der Inkubation bei den verschiedenen Immunglobulinen (IgG, IgM und IgA) ermöglichen optimales Arbeiten bei jedem Parameter (kürzest mögliche Zeit, minimaler Aufwand etc.). Allerdings können diese Vorteile nur genutzt werden, wenn ausreichend Seren für die verschiedenen Untersuchungen (z.B. ausreichend IgG und ausreichend IgM Untersuchungen) vorliegen, um mindestens jeweils einen Objektträger zu füllen. Soll bzw. muss jedoch z.B. ein einziges Serum auf IgG, IgM und ggf. auch noch auf IgA untersucht werden, ist die oben aufgeführte Unterscheidung bei der Sereninkubation nicht mehr sinnvoll. Vielmehr sollte der IgG, IgM und der IgA Nachweis in diesem Fall auf einem Objektträger angesetzt werden. Der Serumininkubationsschritt richtet sich dabei nach den höchsten Anforderungen (längste Zeit und höchste Temperatur). So wird sichergestellt, dass optimale IgM Ergebnisse erhalten werden. Die Ergebnisse für IgG und IgA werden dadurch nicht beeinträchtigt, außer dass der etwas höhere Hintergrund, welcher sonst nur bei IgM Nachweisen zu beobachten ist, auch hier auftreten kann.

4. Objektträger feuchter Kammer entnehmen. Serum- bzw. Flüssigkeitsüberschuss mit PBS vorsichtig abspülen (Strahl aus Spritzflasche dabei keinesfalls direkt auf die Auftragstelle richten!).

5. 2x 5 min in PBS Puffer waschen (nach 1x 5 min Wechsel in neuen Puffer); möglichst große Färbetröge benutzen, und den (die) Objektträger im PBS Puffer nicht bewegen bzw. nicht rühren.

6. Objektträger mit Saugpapierschablonen trocknen, aber Substrat dabei nicht trocken werden lassen und deshalb sofort anschließend

7. das entsprechende Konjugat auf die Auftragstellen tropfen (flächendeckend, je nach Größe der Auftragstelle ca. 15-50 µl). Ein Tropfen aus Biognost® Konjugatflaschen entspricht ca. 25 µl.

8. Objektträger lichtgeschützt 30 min bei Raumtemperatur in feuchter Kammer inkubieren. Dabei speziell vor direkter Sonneneinstrahlung schützen und Heizungsnähe meiden.

9. Schritte 4-6 wiederholen und dann sofort

10. zwei bis drei kleine Tropfen Einschlussmedium auf dem Objektträger verteilen, Präparat luftblasenfrei mit Deckglas versehen und sofort unter dem Fluoreszenzmikroskop auswerten.

Gegebenenfalls übergelaufenes Einschlussmedium vorsichtig mit einem mit PBS angefeuchteten Papiertuch entfernen, um ein Ankleben am Mikroskopoptisch bzw. im Präparatebehältnis zu vermeiden.

Langzeitkonservierung der Präparate: Versiegeln der Kanten mit farblosem Nagellack, Lagerung bei ≤ -20°C bis zu mehreren Jahren.

Der Testansatz kann auch automatisiert durchgeführt werden.

## BEWERTUNG UND INTERPRETATION

Die Präparate werden unter einem Fluoreszenzmikroskop bei einer 400-500fachen Vergrößerung beurteilt (Filterbereich 450-490 nm). Nicht zu lange ein und dasselbe Gesichtsfeld mustern, sondern in rascher Folge möglichst viele Gesichtsfelder auswerten, um das Ausbleichen des Präparats zu vermeiden.

Ein Testansatz kann nur dann bewertet werden, wenn die mitgeführten Kontrollen die erwarteten Ergebnisse zeigen.

### Fluoreszenzmuster:

Zur Auswertung muss die Anfärbung der intrazellulär in den HEp-2 Zellen wachsenden Bartonella henselae beurteilt werden.

### Positiv:

Die spezifische Fluoreszenz ist eine helle apfelgrüne Farbe mit unterschiedlicher Intensität: von 1+ schwach; über 2+ mäßig; 3+ stark bis 4+ brilliant.

### Negativ:

Fluoreszenzen mit geringerer Intensität als 1+ werden als negativ beurteilt. Gelbliche oder dunkelgrüne Fluoreszenzen sind unspezifisch und dürfen nicht berücksichtigt werden.

### Titer:

Der Titer ist der reziproke Wert der höchsten Verdünnung, bei der noch mindestens eine 1+ Fluoreszenz zu sehen ist.

Beispiel: Wird die 1:80 Verdünnung mit 1+ positiv bewertet, die 1:160 Verdünnung aber negativ, so ist der Titer 80.

### Zielantigen oder Zielstruktur:

Eine Probe wird als positiv für Antikörper gegen Bartonella henselae beurteilt, wenn mindestens eine 1+ Fluoreszenz der intrazellulär

mit Bartonella henselae infizierten HEp-2 Zellen (ca. 10-50% der Zellen im Zellrasen) zu sehen ist. Da die Antigenverteilung in den einzelnen infizierten Zellen nach dem jeweiligen Infektionsgrad und -stadium variiert, verursachen positive Patientenserum in den infizierten Zellen unterschiedlich große (ggf. auch unterschiedlich strukturierte) fluoreszierende Bereiche.

Positive Fluoreszenzmuster:

1. Die ganze Zelle ist angefärbt.
2. Anfärbung eines peripheren Bereichs der Zelle.
3. Anfärbung eines polaren Bereichs der Zelle. (Die Muster 2 und 3 sind häufig gekoppelt)
4. Distinkte Punkte, entweder über die ganze Zelle verteilt oder in einem polaren Bereich der Zelle.
5. Eine dünne Linie der Fluoreszenz entlang der Zellmembran.

In den Auftragstellen kann auch freies, extrazelluläres Bartonella Antigen vorhanden sein (Bartonella henselae hat die Tendenz, sich an Glas zu binden). Da dies aber nur schwer von einer eventuellen Hintergrundanfärbung zu unterscheiden ist, wird empfohlen, nur die infizierten Zellen zur Auswertung heranzuziehen.

Zur Vermeidung von Fehlinterpretationen vergleiche man stets das Fluoreszenzmuster der Patientenserum mit dem der positiven Kontrolle.

IgM Antikörper sind häufig nur gegen eine sehr kleine Auswahl der Antigene gerichtet. Diese Auswahl kann individuell von Patient zu Patient unterschiedlich sein und auch von Zelle zu Zelle variieren. Deshalb kann das Fluoreszenzmuster bei verschiedenen Patienten unterschiedlich sein und sich auch von der positiven Kontrolle unterscheiden. Wichtig ist, dass die Fluoreszenzen in maximal 50% der Zellen auftreten. Bei IgM positiven Reaktionen findet man meistens nur eine Fluoreszenz entlang der Zellmembran, oft kombiniert mit fluoreszierenden Punkten in den Zellen.

Eine Fluoreszenz der HEp-2 Zellen selbst, wie sie bei Anwesenheit antinukleärer Antikörper (ANA) oder anderer Autoantikörper in allen Zellen auftritt, ist unspezifisch und als negativ zu bewerten.

### Interpretation der Ergebnisse:

#### 1. Referenzbereich und Spezifität:

Referenzbereiche können bei der Befundinterpretation eine Orientierungshilfe darstellen. Referenzbereiche geben an, welche Messwerte (Titer, Extinktion) bei gesunden Normalpersonen zu erwarten sind. Referenzbereiche sind eine statistische Größe und können in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des untersuchten Kollektivs (Alter, Geschlecht, Geographie) sowie in Abhängigkeit von der jeweiligen Messmethode differieren. Zwischen Kranken und Gesunden besteht messtechnisch generell keine scharfe Grenze, vielmehr ist der Übergang meist fließend.

Definitionsgemäß umfasst der Referenzbereich nur 95% des gemessenen Konzentrationsbereichs. 5% der gesunden Personen des untersuchten Kollektivs liegen demnach außerhalb des Referenzbereiches ohne krank zu sein.

Ein innerhalb des Referenzbereiches liegendes Laborergebnis schließt daher eine Krankheit nicht sicher aus. Ein außerhalb liegendes Ergebnis ist für sich alleine kein zwingender Beweis für eine Krankheit.

#### Untersuchung von gesunden Blutspendern:

Basierend auf der Auswertung von gesunden Blutspendern im Alter zwischen 22 und 40 Jahren aus allen Teilen Deutschlands sowie Belgien, Dänemark, Frankreich, Griechenland, Großbritannien, Holland, Irland, Italien, Luxemburg, Polen, Portugal, Österreich und Spanien wurden für den Biognost® Bartonella henselae IFT folgende Referenzbereiche ermittelt.

#### Bartonella henselae IgG

Anzahl der Blutspender: 534

Referenzbereich (Titerbereich): <2 - 32

Messwerte oberhalb des Referenzbereiches: Anzahl: 0

Mittlerer Durchseuchungstiter: 9

**Empfehlung:** die Seren werden zum Screenen 1:4 bzw. 1:8 oder 1:5 bzw. 1:10, zum Titrieren gemäß 1:16, 1:32, 1:64 etc. oder 1:20, 1:40, 1:80 etc. mit PBS Puffer verdünnt, sofern die regionalen Referenzbereiche mit den von Bios® bestimmten Werten übereinstimmen.

#### Bartonella henselae IgM

Anzahl der Blutspender: 544

Referenzbereich (Titerbereich): <2 - 5

Messwerte oberhalb des Referenzbereiches: Anzahl: 10

Mittlerer Durchseuchungstiter: 1

**Empfehlung:** die Seren werden zum Screenen 1:2, zum Titrieren gemäß 1:4, 1:8, 1:16 etc. mit PBS Puffer verdünnt, sofern die regionalen Referenzbereiche mit den von Bios® bestimmten Werten übereinstimmen.

#### Spezifität:

Nach der Ermittlung des Referenzbereiches kann die diagnostische Spezifität des Assays daraus abgeleitet werden.

Die Spezifität eines Tests gibt an, wie viel Prozent der Gesunden ein „normales“ Testergebnis haben („richtig negativ“). Die Anzahl aller Gesunden entspricht der Summe aus „richtig negativ“ und „falsch positiv“.

Die diagnostische Spezifität wird gemäß folgender Formel definiert:

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{Anzahl richtig Negative}}{\text{Anzahl richtig Negative} + \text{Falsch Positive}} \times 100\%$$

Beim Biognost® Bartonella henselae IFT ergibt sich für den IgG IFT eine Spezifität von 100% und für den IgM IFT von 98%.

**2. Sensitivität:**

Untersuchung von erkrankten Personen:

Die Sensitivität eines Tests gibt an, wieviel Prozent der Kranken ein pathologisches Testergebnis haben („richtig positiv“). Die Anzahl aller Erkrankten entspricht der Summe aus „richtig positiv“ und „falsch negativ“.

**Bartonella henselae IgG**

Anzahl der Patienten: 58

Messergebnisse (Titer): 128 - 1024

Messwerte unterhalb des Referenzbereiches: Anzahl: 0

**Bartonella henselae IgM**

Anzahl der Patienten: 64

Messergebnisse (Titer): 8 - 256

Messwerte unterhalb des Referenzbereiches: Anzahl: 0

Die diagnostische Sensitivität wird gemäß folgender Formel definiert:

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl richtig Positive}}{\text{Anzahl richtig Positive} + \text{Falsch Negative}} \times 100\%$$

Beim Biognost® Bartonella henselae IFT ergibt sich für den IgG IFT und den IgM IFT jeweils eine Sensitivität von 100%.

Obige Werte sollten in den einzelnen Labors kritisch überprüft werden. Jedes Labor sollte eigene Grenztiter unter Einbeziehung der regionalen Besonderheiten definieren. Vor allem bei Kindern, Senioren und immungeschwächten Patienten sollte mit niedrigeren Grenztitern gearbeitet werden.

Statistische Auswertungen können bei Fallzahlen unter 10 000 ungenau sein.

Nur ein signifikanter Anstieg (um mindestens 2 Titerstufen) der IgG Antikörpertiter zwischen einer akuten und einer konvaleszenten Probe gilt als beweisend für eine akute Infektion. Durch Verlaufsuntersuchungen kann nämlich die Sensitivität ohne Spezifitätsverlust gesteigert werden, wenn der Analyt mit hoher Präzision gemessen werden kann. Steigende Konzentrationen können evtl. schon innerhalb des Referenzbereiches auf eine Krankheit hinweisen.

Einzeltitern dagegen sind in der Aussage begrenzt. Ein positives IgM Ergebnis ist ebenfalls ein Hinweis auf eine akute Infektion.

Nach Angaben anderer Autoren können Titer  $\geq 64$  als positives Einzelergebnis interpretiert werden. In vereinzelt Fällen wurden bei Seren, die Antikörper gegen Bartonella quintana, Chlamydia pneumoniae oder EBV enthielten, im Titerbereich  $<100$  Kreuzreaktionen mit Bartonella henselae beobachtet. Durch Weiter- bzw. Ausdünnung der Proben und Einbeziehung der anamnestischen und klinischen Daten ist jedoch eine eindeutige Differenzierung der Testergebnisse möglich. Kreuzreaktionen mit Afipia felis konnten nicht beobachtet werden.

Aufgrund geringer Fallzahlen liegen bisher nur begrenzte Erfahrungen insbesondere bezüglich des IgG und IgM Titerverlaufs während der Infektion vor.

**LITERATUR**

1. Dolan M.J., Wong M.T., Regnery R.L., Jorgensen J.H., Garcia M., Peters J., Drehner D.: Syndrome of Rochalimaea henselae Adenitis Suggesting Cat Scratch Disease. Ann. Intern. Med. 118, 1993, 331-336.
2. Zangwill K.M., Hamilton D.H., Perkins B.A., Regnery R.L., Plikaytis B.D., Hadler J.L., Cartter M.L.: Cat Scratch Disease in Connecticut. Epidemiology, Risk Factors, and Evaluation of a New Diagnostic Test. N. Engl. J. Med. 329, 1993, 8-12.
3. Tompkins D.C., Steigbigl R.T.: Rochalimaea's Role in Cat Scratch Disease and Bacillary Angiomatosis. Ann. Intern. Med. 118, 1993, 388-390.
4. Regnery R.L., Olson J.G., Perkins B.A., Bibb W.: Serological response to "Rochalimaea henselae" antigen in suspected cat-scratch disease. The Lancet 339, 1992, 1443-1445.
5. Margileth A.M., Hayden G.F.: Cat Scratch Disease, From Feline Affection to Human Infection. N. Engl. J. Med. 329, 1993, 53-54.
6. Lucey D., Dolan M.J., Moss C.W., Garcia M., Hollis D.G., Wegner S., Morgan G., Almeida R., Leong D., Greisen K.S., Welch D.F., Slater L.N.: Relapsing Illness Due to Rochalimaea henselae in Immunocompetent Hosts: Implication for Therapy and New Epidemiological Associations. Clin. Infect. Dis. 14, 1992, 683-688.
7. Welch D.F., Pickett D.A., Slater L.N., Steigerwald A.G., Brenner D.J.: Rochalimaea henselae sp. nov., a Cause of Septicemia, Bacillary Angiomatosis, and Parenchymal Bacillary Peliosis. J. Clin. Microbiol. 30, 1992, 275-280.
8. Sander A., Bühler C., Pelz K., von Cramm E., Brecht W.: Detection and Identification of Two Bartonella henselae Variants in Domestic Cats in Germany. J. Clin. Microbiol. 3, 1997, 584-587.
9. Brenner D.J., O'Connor S.P., Winkler H.H., Steigerwald A.G.: Proposals to Unify the Genera Bartonella and Rochalimaea, with Descriptions of Bartonella quintana comb. nov., Bartonella vinsonii comb. nov., Bartonella henselae comb. nov., and Bartonella elizabethae comb. nov., and To Remove the Family Bartonellaceae from the Order Rickettsiales. Int. J. Syst. Bacteriol. 43, 1993, 777-786.
10. Regnery R., Tappero J.: Unraveling Mysteries Associated with Cat Scratch Disease, Bacillary Angiomatosis, and Related Syndromes. Emerg. Inf. Dis. 1, 1995.
11. Barka N.E., Hadfield T., Patnaik M., Schwartzmann W.A., Peter J.B.: EIA for Detection of Rochalimaea henselae-Reactive IgG, IgM, and IgA Antibodies in Patients with Suspected Cat-Scratch Disease. J. Infect. Dis. 167, 1993, 1503-1504.
12. Drancourt M., Maindardi J.L., Brouqui P., Vanedesch F., Carta A., Lehnert F., Etienne J., Goldstein F., Acar J., Raoult D.: Bartonella (Rochalimaea) Quintana Endocarditis in Three Homeless Men. N. Engl. J. Med. 7, 1995, 419-423.
13. Sander A, UK Freiburg, persönliche Mitteilung
14. Weller T.H., Coons A.H.: Fluorescent Antibody Studies with Agents of Varizella and Herpes Zoster Propagated in vitro. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86, 1954, 789-794.

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

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

Unsere Gebrauchsinformationen sind geistiges Eigentum der Firma Bios und nur nach unseren Vorgaben zu verwenden.

Bios® GmbH Labordiagnostik, Hofmannstr. 5-7, D-81379 München,

Fon/Fax: +49 89/78020599-0/-40, e-mail: [bios@bios-world.com](mailto:bios@bios-world.com), Biosite® [www.bios-world.com](http://www.bios-world.com)

15. Riggs J.L., Siewald R.J., Burckhalter J.H., Downs C.M., Metcalf T.G.: Isothiocyanate Compounds as Fluorescent Labeling Agents for Immune Serum. Am. J. Pathol. 34, 1958, 1081-1097.

\* Wir aktualisieren unsere pGI im Abstand von bis zu mehreren Jahren (siehe das oben auf allen Seiten angegebene Datum). Einzelne hier aufgeführte Testreagenzien können im Augenblick nicht (mehr) lieferbar sein, andere Testreagenzien können neu dazugekommen sein. Bitte aktualisieren Sie deshalb ggf. Ihr Preis- bzw. Produktlistenblatt für den Nachweis von Antikörpern gegen Bartonella henselae. Auch der Besuch der Biosite® kann helfen. Aber die Aktualisierung unserer Datenbank ist immer schneller als die Aktualisierung unserer Website.

Im Zuge der Umstellung auf die UDI-Auszeichnung unserer Produkte werden zukünftig nur die Einzelreagenzien nach den UDI-Kriterien mit UDI-DI und UDI-PI ausgezeichnet. Der Reagenziensatz (früher Kit) wird keinen eigenen UDI Träger erhalten.