

## Testkit zum qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen *Leptospira* spp. im Vollblut, Plasma oder Serum des Hundes



In-vitro-Diagnostikum für den tierärztlichen Gebrauch.

### Klinische Bedeutung

Die Leptospirose (Weilsche Krankheit) ist eine weltweit verbreitete bakterielle Infektionskrankheit bei den verschiedensten Tierarten sowie beim Menschen (Zoonose!). Von der pathogenen Spezies *Leptospira interrogans* sensu lato sind heute mehr als 300 Serovaren bekannt, die in 24 Serogruppen unterschiedlichster Pathogenität zusammengefasst sind. Aufgrund des Nichtbestehens einer Kreuzimmunität der Impferovare und eines zunehmenden „Serovarshifts“ gewinnt die Leptospirose in letzter Zeit an Bedeutung (weltweit steigende Prävalenzen v. a. für *L. icterohaemorrhagiae*, *L. canicola*, *L. grippityphosa*, *L. australis* und *L. pomona*).

Die Übertragung erfolgt direkt: horizontal (v.a. infektiöses Abortmaterial, Urin, Futtertiere [Erregerreservoir: Nager, kleine Säuger], Bisse), vertikal (laktogen, plazentar, venerisch) sowie indirekt: kontaminierter Erdboden, Wasser.

Sowohl die Inkubationszeit als auch die Symptome sind stark abhängig vom Alter, Immunstatus, Serovar-Typ. Subklinische Infektionen sind eher die Regel, belegt durch zahlreiche Studien (höhere Seroprävalenz als die Prävalenz der klinischen Erkrankung). Bei bestehender Immunität aufgrund früherer Infektion erfolgt i. d. R. eine rasche Antikörper (AK)-Bildung und Erregerelimination. Typisch sind allgemeine Symptome wie Fieber, Apathie, Anorexie, Leistungsabfall, Gewichtsverluste, teilweise Diarrhoe 3-7 Tage nach Infektion sowie blasse ikterische Schleimhäute. Weitere Symptome sind Spätaborte, Totgeburten, Geburt lebensschwacher Jungtiere. Innerhalb von 48-72 h können sich gravierende, teils tödliche Verläufe je nach Organmanifestation (v. a. Nieren [tubuläre Persistenz]-, Leber- und Lungen [hämorrhag. Syndrom]-Dysfunktionen, DIC) entwickeln.

Ein klinischer Leptospirose-Verdacht erfordert eine rasche, labor-diagnostisch abgesicherte Diagnose, da die Tiere ein Ausscheider- und Infektionsrisiko für Mensch und Tier darstellen. Da der direkte Erregernachweis (Dunkelfeldmikroskopie, Kultur, PCR [falsch negativ durch hohe Antibiotikagaben]) oft schwierig, zeitaufwändig, teuer und nur im positiven Falle beweisend ist, kommt dem Antikörperrnachweis eine wichtige diagnostische Bedeutung zu. Derzeitige Referenzmethode ist der Mikroagglutinationstest (MAT). Allerdings variiert dessen Sensitivität stark (30-80%) in Abhängigkeit vom Infektionsstadium und er unterscheidet nicht zwischen IgM- und/oder IgG-Antikörpern. Daher kann ein reiner IgM-Nachweis (Anstieg bereits in der 1. Woche p.inf./Maximum zw. der 2.-3. Woche) gegenüber dem MAT-Nachweis bzw. dem reinen IgG-Nachweis (nachweisbarer Anstieg erst nach 3.-4. Woche, monatelange Persistenz, impfbedingte IgG-AK-Persistenz) von erheblichem diagnostischem Vorteil sein.

Der Primagnost<sup>®</sup> Lepto H stellt für den Tierarzt eine wichtige Diagnostikhilfe zum schnellen und einfachen vor-Ort-Nachweis einer Leptospirose im Frühstadium dar. So können unverzüglich weitere labor-diagnostische und therapeutische sowie prophylaktische Maßnahmen eingeleitet werden.

### Informationen zum Probenmaterial

Für den Test werden 10 µl (definiertes Volumen aus der beigefügten Einmal-Kunststoffpipette) 15-25 °C warmes Vollblut (VB, mit Gerinnungshemmer) bzw. Plasma (P) oder Serum (S) benötigt. Nativblut ohne Zusatz von Gerinnungshemmern sollte aufgrund potentieller Mikroagglutinationen (z. B. Migrationsverzögerung auf der Membran, unspezifische Reaktionen etc.) **möglichst nicht verwendet werden!**

Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren!

Ungekühlt (15–25 °C) sollten VB, P und S innerhalb von 4 Stunden getestet werden! Bei 2–8 °C können VB, P und S bis max. 4 Tage gelagert werden. Serum- und/oder Plasmaproben können dauerhaft bei mindestens -20 °C aufbewahrt werden.

Beachten Sie, dass das Probenmaterial, ebenso wie alle verwendeten Testkitkomponenten, zum Zeitpunkt der Anwendung **Raumtemperatur** haben sollte.

**Endogene und exogene Störsubstanzen einer Probe** (z. B. Albumin, Fibrinogen, Lipide, CRP, heterophile Antikörper, v.a. IgA-Typ, aber auch Viskosität, pH-Wert sowie EDTA-Überschuss) **sowie Nativblut können Störeffekte (Matrixeffekte) verursachen, die die Messung der IgM-Antikörper beeinflussen können. Diese können zu gestörtem LF und/oder unspezifischen Reaktionen auf T und C führen.**

### Testprinzip

Der Primagnost<sup>®</sup> Lepto H basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“.

Die im Probenmaterial enthaltenen IgM-Antikörper gegen *Leptospira* reagieren im Bereich des Konjugatkissens mit mobilen, an kolloidale Goldpartikel gebundenen Anti-Hund-Antikörpern. Diese Immunkomplexe wandern entlang der Membran („lateral flow“, LF) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen Testlinie (T) an membranfixierte, rekombinante *Leptospira*-Lipopolysaccharide.

Die korrekte Testdurchführung wird durch die Ausbildung einer zweiten, klar konturierten pink-purpurfarbenen Kontrolllinie (C) angezeigt.

### Probenvorbereitung

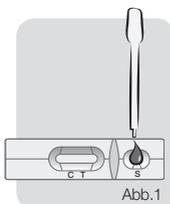
- Keine Probenvorbereitung notwendig.
- **CAVE:** Unvollständig gefüllte und/oder unzureichend durchgeschüttelte EDTA-, Citrat- oder Heparinröhrchen können nicht sichtbare Mikrogerinnsel verursachen, die ebenfalls zu Migrationsverzögerungen bzw. zu unspezifischen Reaktionen (z.B. gräuliche, schattenartige Linien) führen können.

# Gebrauchsinformation

## Testdurchführung

**1.** Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.

**2.** Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die Probe bis zur Markierung ( $\approx 10 \mu\text{l}$  Probenvolumen!) auf und geben das gesamte Probenvolumen ( $10 \mu\text{l}$ ) in das Probenfenster S der Testkassette (Pipette dabei senkrecht halten, Abb.1).



**3.** Halten Sie die Tropfflasche senkrecht und tropfen Sie 1 Tropfen der Pufferlösung (ca.  $40\text{--}50 \mu\text{l}$ ) ebenfalls in das Probenfenster S (Abb.2).



**4.** Sollte 1 Minute nach Auftropfen der Pufferlösung kein beginnender m.o.w. pinkfarbener LF sichtbar werden, geben Sie nochmals sofort 1 Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S.

## Auswertung

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten nach Zugabe des Pufferlösens in das Probenfenster S abzulesen.



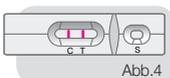
### Testergebnis negativ (Abb. 3)

Nur eine pink-purpurfarbene Kontrolllinie erscheint. Diese Linie zeigt, unabhängig von ihrer Intensität, die korrekte Testdurchführung an.



### Testergebnis positiv (Abb. 4)

Eine schwach bis stark intensiv pink-purpurfarbene Testlinie und Kontrolllinie erscheinen.



### Ungültiges Testergebnis

Nur eine schwach bis stark intensiv pink-purpurfarbene Testlinie oder keine der beiden Linien erscheint. Der Test muss unter Verwendung einer neuen Testkassette wiederholt werden.

## Informationen zur Testauswertung

- Die Interpretation des abgelesenen Testergebnisses sollte im Rahmen der Anamnese, Klinik, Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten betrachtet werden.
- Jegliche nicht beschriebenen Farb- und Konturabweichungen von T und C (z.B. gräuliche, schattenartige Linien) innerhalb der angegebenen Inkubationszeit sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollbluts und/oder stark hämolytierten Probenmaterials kann T aufgrund des m.o.w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.

- **Zwei-Stufen-Leptospirose-Diagnostik** als Mittel der Wahl.
  - 1. Stufe:** IgM-Ak-Screening mittels Primagnost® Lepto H.
  - A: Test positiv + Klinik** → hoch verdächtig für akute Leptospirose
  - B: Test negativ + Klinik** → IgM-Ak-Konzentration noch zu niedrig (<2 Wochen p.inf.) → Wiederholung des Primagnost® Lepto H nach 1 Woche.
  - 2. Stufe** nach positivem Primagnost® Lepto H: Serumpaar im Abstand 2-4 Wochen zur quantitativen IgM- und/oder IgG-Ak-Titer-Bestimmung mittels indirekter Immunfluoreszenz (IFAT) → 2- bis 4- facher Titeranstieg → Bestätigung einer akuten Infektion. Alternative: MAT (Titer- und Serovarbestimmung: keine Unterscheidung IgG/IgM!).

Vorteil dieser kombinierten IgM/IgG-2-Stufen-Diagnostik ist eine bessere Unterscheidung von infektiösen- und impfinduzierten Ak-Titern bzw. des Infektionsstadiums.

- Aufgrund serologischer Kreuzreaktion zwischen den verschiedenen Serovaren und Serogruppen kann eine Leptospirose-Impfung in der Frühphase der Immunantwort (IgM > IgG) bzw. bis  $\approx 2\text{--}3$  Monaten zu einem positiven Primagnost® Lepto H führen.

## Vorsichtsmaßnahmen

- Beschriften Sie Probenmaterial und zugehörige Testkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe eine neue Einmal-Kunststoffpipette verwenden.
- Die Pufferlösung enthält geringgradige Konzentrationen an toxischem Natriumazid als Konservierungsmittel. Hautkontakt und/oder Ingestion sind unbedingt zu vermeiden!
- Das Probenmaterial muss als potentiell infektiös angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

## Haftung

Das gesamte Haftungsrisiko im Zusammenhang mit der Verwendung dieses Produktes liegt beim Käufer. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für indirekte, spezielle oder daraus folgende Schäden jeglicher Art, die aus der Benutzung, Testdurchführung und -auswertung dieses Produktes resultieren.

## Besondere Hinweise

- Nur für den tierärztlichen Gebrauch.
- Keine Testkits mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.

## Lagerung und Haltbarkeit

- Bei Raumtemperatur (+15 bis +25 °C) lagern. Bei sachgemäßer Lagerung haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

## Handelsform

- 1 Packung Primagnost® Lepto H enthält:
  - 5 Testkassetten, beschichtet mit rekombinanten Antigenen
  - 1 Tropfflasche mit  $1,0 \text{ ml}$  Pufferlösung
  - 5 Einmal-Kunststoffpipetten à  $10 \mu\text{l}$
  - 1 Gebrauchsinformation