



Gebrauchsinformation für Hämolyse-Gel-Test (HiG) Kontrolltestpackung

Best.-Nr.: RH-110, RH-130
Ausgabe: 2003-11

Diagnostische Bedeutung

Rötelnvirusinfektionen verursachen meist eine harmlos verlaufende Kinderkrankheit, wobei es zu einer Krankheitshäufung bei Kindern zwischen dem dritten und zehnten Lebensjahr kommt. Aufgrund der Symptomatik lassen sich Rötelninfektionen oft nur schwer klinisch diagnostizieren, da etwa 30 - 40 % der Infektionen inapparent verlaufen (1).

Eine fetale Infektion während der Frühschwangerschaft kann jedoch zu schweren congenitalen Abnormitäten führen. Das Ausmaß der fetalen Schädigung ist von der teratogenen Potenz des Virus abhängig und vom Zeitpunkt der Infektion während der Schwangerschaft: im ersten Trimenon der Schwangerschaft beträgt das Risiko einer fetalen Schädigung 25 - 35 % und nimmt mit zunehmendem Schwangerschaftsverlauf ab (2, 3).

Antikörper gegen das Rötelnvirus sind schon kurz nach Auftreten der Symptome nachweisbar. Im Gegensatz zu spezifischen IgM-Antikörpern, die in der Regel nur in den ersten 8 Wochen nachweisbar sind, weisen spezifische IgG-Antikörper eine lebenslange Persistenz auf.

Auch nach erfolgreicher Impfung können Reinfektionen auftreten, die in der Regel asymptomatisch verlaufen und durch eine erhöhte Konzentration spezifischer IgG-Antikörper diagnostiziert werden können (4).

Der Nachweis einer bestimmten Konzentration spezifischer IgG-Antikörper im Serum lässt auf eine ausreichende Immunität gegenüber einer Rötelninfektion schließen.

Der Test wurde zur Immunstatusbestimmung nach Immunisierung oder Rötelninfektion und zur Bestätigung schwach positiver Ergebnisse im Hämagglutinationshemmtest (HHT / HAH) konzipiert.

Diese Kontrolltestpackung wurde zur Abklärung möglicher Störreaktionen im Hämolyse-Gel-Test (Testpackung mit Rötelnantigen-beschichteten Kükenerythrozyten) konzipiert, die jedoch sehr selten auftreten.

Testprinzip

Der Hämolyse-Gel-Test weist Antikörper der Klasse IgG nach. Das Prinzip des Hämolyse-Gel-Tests für Röteln beruht auf der radialen Diffusion der zu testenden Serumantikörper in einer Gelschicht. Bei der Kontrolltestpackung HiG sind in der Gelschicht Kükenerythrozyten ohne Rötelnantigenbeschichtung eingegossen. Während der Diffusionszeit des Serums im Gel sollten keine Antigen-Antikörper-Komplexe entstehen, die durch die anschließende Zugabe des Komplements lysiert und zu einer klaren Hofbildung im Gel führen würden. Nur wenn das Serum Störfaktoren wie z. B. Antikörper gegen Geflügelerythrozyten enthält, findet eine unspezifische Hämolyse statt. Bei normalen Serumproben darf keine Hämolyse auftreten.

Gefahrenhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Beachten Sie die Laborvorschriften für die Handhabung von infektiösem Material!

Serumproben werden grundsätzlich als **potentiell infektiös** angesehen, deshalb müssen bei der Testdurchführung die Laborvorschriften für die Handhabung und Entsorgung von infektiösem Material beachtet werden.

Inhalt der Testpackung

Der Inhalt einer Testpackung ist ausreichend für mindestens 6 (Best.-Nr. RH-130) oder 13 (Best.-Nr. RH-110) Serum- oder Kapillarblutproben (5) und enthält folgende Komponenten:

Testplatte

Agarose-Gel mit unbeschichteten Küken-Erythrozyten

Komplement

0,8 ml Meerschweinchen-Serum, lyophilisiert (Best.-Nr. RH-110)

0,4 ml Meerschweinchen-Serum, lyophilisiert (Best.-Nr. RH-130)

DGV-Puffer

4,0 ml Dextrose-Gelatine-Veronal-Puffer (Best.-Nr. RH-110)

2,0 ml Dextrose-Gelatine-Veronal-Puffer (Best.-Nr. RH-130)

Zusätzlich erforderliches Material

Kontrollserum (Best.-Nr.: RS-030 oder RS-130)

Brutschrank mit 37 °C

Wasserbad

Mikropipetten mit Einmalspitzen (10 µl, 100 µl, 1000 µl)

Lineal oder Schablone (auf Anfrage erhältlich)

Vorbereitung und Lagerung der Proben

Hämolytische, kontaminierte Proben oder Seren, die Partikel enthalten, sind für den Test nicht geeignet.

Die Proben können bei + 2 °C bis + 8 °C bis zu 5 Tagen oder bei - 20 °C für längere Zeit gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

Vorbereitung und Lagerung der Reagenzien

Die Testpackung bei + 2 °C bis + 8 °C dunkel lagern und bis zum angegebenen Verfalldatum verwenden. Haltbarkeit bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Datum.

Durchführung des HiG

1. Je 25 µl Serumprobe, einschließlich Kontrollserum, 30 min bei 56 °C im Wasserbad inaktivieren.
Eine weitere Serum-Vorbehandlung ist nicht erforderlich.
2. Pro Stanzloch 5 µl Serum sorgfältig einfüllen.
Agarschicht nicht beschädigen. Gelegentliches Überlaufen, durch Luftblasen oder Kondenswasser bedingt, hat in der Regel keinen Einfluß auf den Hämolyse-Hof.
3. 16 - 18 Stunden bei 37 °C inkubieren. Dabei besonders darauf achten, dass die Agar-Platten exakt waagrecht stehen.
4. Lyophilisiertes Komplement mit beigegebenem DGV-Puffer auflösen und gleichmäßig über die Platte verteilen.
5. 3 Stunden bei 37 °C inkubieren. Dabei besonders darauf achten, dass die Agar-Platten exakt waagrecht stehen.
6. Komplement absaugen oder abgießen. Platte zum Trocknen ca. 1 Stunde mit geöffnetem Deckel bei Zimmertemperatur stehenlassen.

AbleSEN der Ergebnisse

Der Hämolyse-Durchmesser wird mittels Lineal oder Schablone (auf Anforderung erhältlich) im Gegenlicht abgelesen. Die Verwendung eines Ablese-Gerätes ist möglich, aber nicht erforderlich. Bei normalen Serumproben dürfen keine Hämolysehöfe auftreten. Andernfalls sind diese Seren für eine Untersuchung in dieser Testmethode nicht geeignet und sollten mit einer anderen Methode untersucht werden: z. B.: ELIMMUN-Rubella G (Best.-Nr. ER-100; Röteln IgG ELISA), FLUORIMMUN-Rubella G (Best.-Nr. FR-200; indirekter IgG-Immunfluoreszenztest).

Literatur

- 1) Enders G, (1986) Röteln, In: Klinische Virologie (Gsell O, Krech U, Mohr W, ed.) Urban & Schwarzenberg, München, 157 - 172
- 2) Bellanti J A, Artenstein MS, Olson LC, Buescher EL, Lubos CE, Milstead KC (1965) Congenital Rubella. Amer. J. Dis. Child. 110, 464 - 472
- 3) Enders G, (1991) Diagnostik von Rötelninfektionen in der Schwangerschaft durch konventionelle, immunologische und molekular-biologische Methoden, In: Neues in der Virusdiagnostik (Deinhardt F, Mass G, Spiess H, ed.) Deutsches grünes Kreuz, München, 133 - 152
- 4) Enders G, (1991) Röteln, In: Infektionen und Impfungen in der Schwangerschaft (Enders G, ed.) Urban & Schwarzenberg, München, 9 - 35
- 5) Hedman K, Salonen EM, Keski-Oja J, Rähä K, (1986) Single-serum radial hemolysis to detect recent rubella virus-infection. J. Inf. Dis. 154, 1018 - 1023
- 6) Hedman K, Seppälä I, (1988) Recent Rubella Virus Infection Indicated by a Low Avidity of Specific IgG. J. Clin. Imm. 8, 214 - 221
- 7) Zippel C, Federgamm G, Leidel J, Eggers HJ, (1980) Quantitativer Nachweis von Röteln-Virusantikörpern im Kapillarblut. Münch. med. Wschr. 122, 943 - 946