



Nicht für den Verkauf oder Vertrieb in den Vereinigten Staaten von Amerika

Panbio Dengue IgM Capture ELISA

Cat. No. 01PE20/01PE21

DEUTSCH

VORGEGEHENER VERWENDUNGSZWECK

Der Panbio Dengue IgM Capture ELISA dient dem qualitativen Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Dengueantigene im Serum zur Unterstützung der klinischen Labordiagnose von Patienten mit klinischer Symptomatik des Denguefiebers. Der Panbio Dengue IgM Capture ELISA sollte zusammen mit anderen serologischen Maßnahmen zur Diagnose des Denguefiebers eingesetzt werden.

EINLEITUNG

Das zur Gruppe der Flaviviren gehörende Denguevirus ist in den Tropen und Subtropen weit verbreitet. Die Übertragung erfolgt durch Stechmücken, hauptsächlich durch *Aedes aegypti* und *Aedes albopictus*. Denguevirusinfektionen führen von nicht erkennbar bis hin zu tödlicher Hämorrhagie zu einem breiten Spektrum klinischer Manifestationen. Klassisches Denguefieber, auch Knochenbrecherfieber genannt, ist durch den plötzlichen Ausbruch von Fieber, starken Kopfschmerzen, Myalgie, Arthralgie und Ausschlag gekennzeichnet. Häufig ist ein zweiphasischer febriler Verlauf zu beobachten; außerdem treten Schilddrüsenaktivität und Anorexie mit Wahrnehmung eines bitteren Geschmacks oder Geschmacksverlust auf. Hämmorrhagisches Dengue-Fieber sowie das Dengue-Schock-Syndrom sind schwere Komplikationen, die häufig in Zusammenhang mit einer Infektion mit einem weiteren Serotyp stehen. Der Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Dengueviren mit ELISA ist besonders bei zweiten und nachfolgenden Infektionen, in Fällen, in denen das Auftreten von Komplikationen höher ist, ein wertvolles Verfahren. Serum-IgM-Antikörper können bei Dengue-Patienten bereits drei bis fünf Tage nach dem Ausbruch von Fieber nachgewiesen werden und persistieren im Allgemeinen 30 – 90 Tage, obwohl nachweisbare Konzentrationen noch 8 Monate nach der Infektion vorhanden sein können.

TESTPRINZIP

Serumantikörper der IgM-Klasse, falls vorhanden, binden sich an die Anti-Human-IgM-Antikörper, die sich auf der Polystyrol-Oberfläche der Mikrotiterstreifen befinden. Ein konzentrierter Pool der Dengue 1-4 Antigene wird mit Antigen-Diluent verdünnt, sodass das korrekte Arbeitsvolumen erreicht wird. Die Antigene werden mittels Expressionssystemen von Insektenzellen hergestellt und mit einem speziellen monoklonalen Antikörper einer Immunoreinigung unterzogen. Die gleiche Menge an mit HRP konjugierten monoklonalen Antikörpern (MAb) wird zum verdünnten Antigen hinzugegeben, wodurch die Bildung von Antigen-MAb-Komplexen ermöglicht wird. Serumreste werden von der Assayplatte abgewaschen und Antigen-MAb-Komplexe auf die Assayplatte aufgetragen. Nach der Inkubation werden die Kavitäten gewaschen und wird ein farbloses Substratsystem, Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxid (TMB-Chromogen), zugegeben. Das Substrat wird vom Enzym hydrolysiert, und das Chromogen nimmt eine blaue Farbe an. Nach Stoppen der Reaktion mit Säure verfärbt sich das TMB gelb. Die Farbentwicklung weist auf das Vorhandensein von Anti-Dengue-IgM-Antikörpern in der Testprobe hin.

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Hinweis: **01PE21 = 01PE20 x 5**

1. **Mit Anti-Human-IgM** beschichtete Mikrotiterstreifen (12x8 Kavitäten). Die Mikrotiterstreifen sind mit Anti-Human-IgM-Antikörpern beschichtet. Gebrauchsfertig. Unbenutzte Kavitäten sofort wieder verschließen und mit einem Trockenmittel aufbewahren. Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
2. **Dengue 1-4 Antigen (Rekombinant)** – 1 Flaschen mit durchsichtiger Verschlusskappe, 150 µl (Blau) konzentrierte

3. **Washpuffer (20x)** – 1 Flasche, 60 ml 20x-Konzentrat aus phosphatgepufferter Kochsalzlösung (pH 7,2 – 7,6) und Tween 20 mit Konservierungsmittel (0,1 % Proclin™). Bei niedrigen Temperaturen kann es zur Kristallisation kommen. Um dieses Problem zu beheben, bei 37°C inkubieren, bis die Lösung klar ist. Gründlich mischen. Einen Teil Washpuffer mit 19 Teilen destilliertem Wasser verdünnen. Der verdünnte Washpuffer kann bei 2 – 25°C eine Woche lang aufbewahrt werden.
4. **Probenverdünner** – 2 Flaschen, 50 ml (Pink). Gebrauchsfertig. Trisgepufferte Kochsalzlösung (pH 7,2 – 7,6) mit Konservierungsmittel (0,1 % Proclin™) und Zusatzstoffen. Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
5. **Antigen-Diluent** – 1 Flasche, 50 ml (Klar). Gebrauchsfertig. Phosphatpuffer mit Konservierungsmittel (0,1 % Proclin™) und 0,005 % Gentamycin. Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
6. **Mit HRP konjugierter monoklonaler Antikörper-Tracer** – 1 Flasche, 7 ml (Gelb). Gebrauchsfertig. Mit Meerrettichperoxidase konjugierter monoklonaler Antikörper-Tracer mit Konservierungsmittel (0,1 % Proclin™) und Proteinstabilisatoren. Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
7. **TMB-Chromogen (TMB)** – 1 Flasche, 15 ml. Gebrauchsfertig. Eine Mischung aus 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid in Zitronensäurezytrat-Pufferlösung (pH 3,5 – 3,8). Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
8. **MegaKontrolle** – 1 Flaschen mit schwarzer Verschlusskappe, 200 µl Humanserum (enthält 0,1 % NaIumazid und 0,005 % Gentamycinsulfat). Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.

9. **Kalibrator** – 1 Flaschen mit oranger Verschlusskappe, 400 µl Humanserum (enthält 0,1 % NaIumazid und 0,005 % Gentamycinsulfat). Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
10. **MegaKontrolle** – 1 Flaschen mit weißer Verschlusskappe, 200 µl Humanserum (enthält 0,1 % NaIumazid und 0,005 % Gentamycinsulfat). Bei 2 – 8°C bis zum Verfallsdatum stabil.
11. **Stopplösung** – 1 Flasche mit roter Verschlusskappe, 15 ml. Gebrauchsfertig. 1M Phosphorsäure. Bei 2 – 25°C bis zum Verfallsdatum stabil.

Proclin™ 300 ist ein eingetragenes Warenzeichen von Rohm and Haas.

× Klassifikation gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008:

Produkt-Identifikator	Handelsname	Dengue 1-4 Antigen, Washpuffer, Probenverdünner, Antigen-Diluent, HRP konjugiertes
Gefährstoff		Proclin 300 [5-chloro-2-methyl-4-isothiazol-3-one (EC no. 247-500-7) and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (EC no. 220-239-6) (3:1), CAS No. 55965-84-9]
Klassifikation		Az/Reizwirkung auf die Haut Kategorie 2 Schwere Augenschädigung/Reizung Kategorie 2 Hautsensibilisierung Kategorie 1
Gefahrenpiktogramm		
Signalwort		Achtung

H-Sätze	H315: Verursacht Hautreizungen H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen H319: Verursacht schwere Augenreizung
P-Sätze	
Vermeidung	P261: Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden P264: Nach Gebrauch Hände gründlich waschen P272: Kontaminierte Arbeitskleidung sollte außerhalb des Arbeitsplatzes verboten werden P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen
Reaktion	P302+P352: BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen P321: Besondere Behandlung P332+P313: Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P333+P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P337+P313: Bei annähernder Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen P362: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen P363: Kontaminierte Kleidung vor erneutem Tragen waschen P501: Inhalt/Behälter in Übereinstimmung mit den entsprechenden lokalen/regionalen/nationalen/internationalen Bestimmungen entsorgen

WEITERE ERFORDERLICHE MATERIALIEN (NICHT IM TESTKIT ENTHALTEN)

1. Genaue, einstellbare Mikropipetten mit Einwegpipettenspitzen (5 – 1000 µl Fassungsvermögen)
2. Entionisiertes Wasser
3. Waschanlage für Mikrotiterplatten
4. Mikrotiterplattenleser mit 450-nm-Filter
5. Zeitmesser
6. Messzylinder
7. Flasche
8. Reagenzröhrchen oder Mikrotiterplatte für Serumverdünnungen
9. Röhrchen oder Fläschchen aus Glas oder Kunststoff zu Antigen-Verdünnung

VORSICHTSHINWEISE
IN-VITRO-DIAGNOSTIKUM

1. Alle zur Zubereitung der Kontrollseren verwendeten menschlichen Ausgangsstoffe wurden auf Antikörper gegen das humane Immunschwächevirus 1 und 2 (HIV 1 und 2), Hepatitis-C-Virus (HCV) sowie Hepatitis-B-Oberflächenantigen getestet und als negativ befunden. Da jedoch keine Testmethode die Abwesenheit infektiöser Substanzen garantieren kann, sollten alle humanen Kontrollseren sowie Antigene als potenziell infektiöses Material gehandhabt werden. Gemäß den Empfehlungen der Centers for Disease Control and Prevention und der National Institutes of Health (USA) ist potenziell infektiöses Material bei Biosicherheitsstufe 2 zu handhaben.
2. Diesen Test nur an Serum durchführen. Für die Verwendung an Vollblut, Plasma oder anderem Probenmaterial liegen keine Daten

3. vor. Keine Ikterschen oder lipämischen Seren bzw. Seren mit Anzeichen von Hämolyse oder Keimwachstum verwenden.
4. Seren nicht hitzeinaktivieren.
5. Alle Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 – 25°C) erreichen lassen. Temperaturschwankungen beeinträchtigen den Test. Die Kavitäten (Mikrotiterstreifen) erst aus dem geschlossenen Beutel nehmen, wenn sie Raumtemperatur (20 – 25°C) erreicht haben.
6. Reagenzien mithilfe sauberer Pipettenspitzen direkt aus der Flasche dispensieren. Ein Umrühren der Reagenzien kann zu Kontaminationen führen.
7. Benutzte Kavitäten sofort wieder verschließen und mit einem Trockenmittel aufbewahren. Andernfalls kann es zu falschen Ergebnissen kommen.
8. Substratsystem:
 - (a) Da TMB für die Kontamination durch Metallionen anfällig ist, darf das Substratsystem nicht mit Metall in Berührung kommen.
 - (b) Nicht über längere Zeit direkter Lichtwirkung aussetzen.
 - (c) Bestimmte Reinigungsmittel können die Leistung von TMB beeinträchtigen.
 - (d) TMB kann eine leicht blaue Farbe aufweisen. Die Aktivität des Substrats bzw. die Ergebnisse des Assays werden dadurch nicht beeinträchtigt.



9. Einige Komponenten des Kits können Natriumazid enthalten. Dieser Stoff kann mit Blei- oder Kupferleitungen reagieren und

hochexplosive Metallazidverbindungen bilden. Bei Entsorgung dieser Reagenzien durch die Kanalisation sollte mit großen Mengen Wasser nachgespült werden, um Azidansammlungen in den Abflusssystemen zu verhindern.
Natriumazid hemmt die Aktivität des Konjugats. Zum Hinzufügen von Konjugat müssen daher frische Pipettenspitzen verwendet werden, damit kein Natriumazid von anderen Reagenzien übertragen wird.

PROBENENTNAHME UND-VORBEREITUNG

Durch Venerpunktion gewonnenes Blut bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) gerinnen lassen und dann gemäß den Richtlinien des Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) – Approved Standard – Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture, H3) zentrifugieren.
Das Serum sollte so bald wie möglich getrennt und anschließend gekühlt (bei 2 – 8°C) oder tiefgefroren (≤-20°C) aufbewahrt werden, wenn es nicht innerhalb von 2 Tagen getestet wird. Zur Aufbewahrung keine Gefrierbehälter mit Abtauautomatik verwenden. Keine Ikterschen oder lipämischen Seren bzw. Seren, die Anzeichen von Hämolyse oder Keimwachstum aufweisen, verwenden. Das CLSI gibt Empfehlungen zur Aufbewahrung von Blutproben (Approved Standard – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens, H18).

TESTABLAUF

Hinweis: Achten Sie darauf, dass alle Reagenzien vor Testbeginn Raumtemperatur (20 – 25°C) angenommen haben. Eine Durchführung des Assays außerhalb der vorgegebenen Zeit- und Temperaturbereiche kann zu ungenügenden Ergebnissen

führen. Assays, die nicht innerhalb der festgelegten Zeiträume und Temperaturbereiche durchgeführt werden, müssen wiederholt werden.

Vorverdünnung des Serums

- Die benötigte Anzahl Mikrotiterstreifen aus dem Folienbeutel nehmen und in den Streifenhalter einsetzen. Fünf Kavitäten werden benötigt für: Negativkontrolle (N), Positivkontrolle (P) und Kalibrator (CAL) in dreifacher Ausführung. Achten Sie darauf, unbenutzte Mikrotiterstreifen luftdicht im Folienbeutel aufzubewahren.

- Negativkontrolle, Positivkontrolle, Kalibrator und Patientenproben unter Verwendung geeigneter Teströhrchen oder einer Mikrotiterplatte verdünnen.
(a) Zu 10 µl Serum 1000 µl Probenverdünner hinzugeben. Gründlich mischen.

Alternativ dazu

- (b) zu 10 µl Serum 90 µl Probenverdünner hinzugeben. Zu 20 µl des verdünnten Serums 180 µl Probenverdünner hinzugeben. Gründlich mischen.

ELISA–VERFAHREN

Für die Zusammenfassung der Methode siehe beigefügte Abbildung.

(A) Antigen

- Für den Assay erforderliche Anzahl an Kavitäten bestimmen. Das Antigen 1/250 mit Antigen–Diluent verdünnen. Es wird empfohlen, mindestens 10 µl des Antigens mit 2,5 ml des Antigen–Diluents zu verdünnen. Dies ist ausreichend für bis zu fünf Streifen (40 Kavitäten). Je Streifen ist ein Volumen von 0,5 ml des verdünnten

Antigens erforderlich. Nach Zugabe des Antigen–Diluents nimmt die Lösung eine hellblaue Farbe an. Stellen Sie sicher, dass das verbleibende unbenutzte Antigen bei 2 – 8°C gelagert wird.

- Das erforderliche Volumen des verdünnten Antigens entnehmen und mit der gleichen Menge MAB–Tracer in einem sauberen Glas– oder Polypropylen–Fläschchen mischen. Die Antigen–MAB–Tracer–Lösung vorsichtig mischen und bis zur Verwendung bei Raumtemperatur (20 – 25°C) stehen lassen. Unbenutztes verdünntes Antigen entsorgen.

(B) Assayplatte

- Innerhalb von 10 Minuten nach Mischen des MAB–Tracers und des verdünnten Antigens 100 µl verdünnte Patientenprobe und Kontrollen in die entsprechenden Kavitäten der Assayplatte pipettieren.

- Assayplatte abdecken und bei 37°C ± 1°C eine Stunde inkubieren.
- Sechs (6) Mal mit verdünntem Waschipuffer waschen (siehe die Informationen zum Waschverfahren).

- Antigen–MAB–Tracer–Lösung vor dem Umfüllen mischen. 100 µl Antigen–MAB–Komplexe aus dem Antigen–Fläschchen in die entsprechenden Kavitäten der Assayplatte pipettieren.

- Assayplatte abdecken und bei 37°C ± 1°C eine Stunde inkubieren.
- Sechs (6) Mal mit verdünntem Waschipuffer waschen (siehe die Informationen zum Waschverfahren).

- 100 µl TMB in jede Kavität pipettieren.
- 10 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 25°C) inkubieren (die Zeitmessung beginnt mit der ersten Zugabe). Eine Blaufärbung tritt ein.

- 100 µl der Stopplösung in alle Kavitäten pipettieren. Die gleiche

Reihenfolge und Zeitmessung verwenden wie für TMB. Gründlich mischen. Die blaue Farbe wechselt zu Gelb.

- Innerhalb von 30 Minuten die Extinktion der einzelnen Kavitäten bei einer Wellenlänge von 450 nm und mit einem Referenzfilter von 600 – 650 nm ablesen.

Hinweis: Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen. Ein Ablesen der Kavitäten bei 450 nm ohne Referenzfilter kann zu höheren Extinktionswerten wegen Hintergrund führen.

WASCHVERFAHREN

Ein gründliches Waschen ist entscheidend für das ELISA–Verfahren, um alle Problemstoffe oder Komponenten, die keine Komplexe gebildet haben, zu entfernen.

A. Plattenwaschautomat

- Alle Kavitäten vollständig aspirieren.
- Alle Kavitäten während des Waschzyklus bis zum Rand (350 µl) füllen.

- Nach Abschluss der sechs (6) Spülzyklen die Platte umdrehen und fest auf einem saugfähigen Papierhandtuch ausklopfen, um den Waschipuffer vollständig zu entfernen.

- Plattenwaschautomaten sind regelmäßig zu warten, damit die Platten gründlich gereinigt werden. Grundsätzlich sind die Reinigungsanweisungen des Herstellers zu beachten.

B. Manuelles Waschen

- Den Inhalt der Platte in einen geeigneten Abfallbehälter entsorgen. Die Kavitäten mit Waschipuffer füllen. Dazu eine geeignete Spritzflasche verwenden. Darauf achten, dass der Waschipuffer

nicht schäumt, da dies die Reinigungswirkung beeinträchtigt. Waschipuffer sofort aus den Kavitäten ausgießen.

- (3) Schritt (3) weitere vier Mal wiederholen. Insgesamt müssen sechs

(4) Nach Abschluss des Spülzyklus die Kavitäten entleeren und die Platte auf einem saugfähigen Papierhandtuch ausklopfen, um sicherzustellen, dass der Waschipuffer vollständig entfernt wurde.

(5)

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedes Kit enthält einen Kalibrator sowie Positiv– und Negativkontrollen. Akzeptable Werte dafür bitte dem beiliegenden Datenblatt entnehmen. Die Negativ– und Positivkontrollen dienen der grundlegenden Überprüfung der Reagenzienaktivität. Die Positivkontrolle kann keine präzisen Angaben über die Grenzwerte des Tests liefern. Wenn die Extinktionswerte für die Kontrollen oder den Kalibrator nicht den Spezifikationen entsprechen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden. Bei einem ungültigen Test können die Patientenresultate nicht verwendet werden.

Die Qualitätskontrolle muss in Übereinstimmung mit den Anforderungen kommunaler, einzel– oder bundesstaatlicher Behörden, sowie den im jeweiligen Labor üblichen Standardverfahren zur Qualitätssicherung durchgeführt werden.

Angaben zu ordnungsgemäßen Qualitätskontrollpraktiken bitte den CLSI–Dokumenten C24–A und 42 CFR 493.1256 entnehmen.

BERECHNUNGEN

WICHTIGER HINWEIS: Der Kalibrationsfaktor ist ebengenspezifisch und wird im Datenblatt angegeben. Vor Beginn der Berechnungen den Kalibrationsfaktor nachlesen.



- Die durchschnittliche Extinktion des in dreifacher Ausführung ermittelten Kalibratorwerts berechnen und mit dem Kalibrationsfaktor multiplizieren. Dies ist der Grenzwert (Cut-off). Der Indexwert kann berechnet werden, indem die Extinktion der Probe durch den oben in Schritt (1) berechneten Cut-off-Wert dividiert wird.
- Alternativ dazu können Pambio-Einheiten durch Multiplikation des oben in Schritt (2) berechneten Indexwerts mit 10 ermittelt werden.

Indexwert = $\frac{\text{Extinktion der Probe}}{\text{Cut-off-Wert}}$

Beispiel: Extinktion von Probe A = 0,949
Extinktion von Probe B = 0,070

Mittlere Extinktion des Kalibrators = 0,802
Kalibrationsfaktor = 0,62
Cut-off-Wert = $0,802 \times 0,62 = 0,497$

Probe A $(0,949/0,497) = \text{Indexwert } 1,91$
Probe B $(0,070/0,497) = \text{Indexwert } 0,14$

Pambio-Einheiten = **Indexwert x 10**

Probe A $1,91 \times 10 = 19,1$ Pambio-Einheiten
Probe B $0,14 \times 10 = 1,4$ Pambio-Einheiten

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Dieser Cut-off-Wert wurde mittels endemischer Populationen aus

Südostasien/Südamerika und einer örtlichen Population aus Queensland, Australien aus 208 Negativ- (208/409), 91 Positiv- (91/409) und 110 Kontrollproben (110/409) ermittelt. Der Cut-off-Wert wurde mittels TG-ROC-Analyse (Two-Graph Receiver Operating Characteristic, TG-ROC) ermittelt³. Ein Cut-off-Verhältnis von 1,0 wurde basierend auf dem optimalen F-Wert für Sensitivität und Spezifität ausgewählt.

Diagnose der Dengueinfektion: Mit dem Dengue Igm Capture ELISA wird die Konzentration von Igm-Antikörpern gegen Dengueviren im Patientenserum bestimmt. Ein positives Ergebnis (>11 Pambio-Einheiten) weist auf eine aktive primäre oder sekundäre Dengueinfektion hin. Wenn eine Differenzierung zwischen Primär- und Sekundärinfektion erforderlich ist, sollten der Dengue Duo (07PE10) ELISA verwendet werden.

INDEX	PAMBIO-EINHEITEN	ERGEBNIS
<0,9	<9	Negativ
0,9 – 1,1	9 – 11	Nicht eindeutig
>1,1	>11	Positiv
ERGEBNIS	AUSWERTUNG	
Negativ	Kein nachweisbarer Igm-Antikörper. Das Ergebnis schließt eine Dengueinfektion nicht aus. Besteht der Verdacht auf eine Frühinfektion, sollte in 7 – 14 Tagen eine zusätzliche Probe getestet werden. Weitere Dengue-Assays sollten durchgeführt werden, um eine akute Infektion auszuschließen.	

ERGEBNIS	AUSWERTUNG
Nicht eindeutig	Nicht eindeutige Proben sollten erneut getestet werden. Proben, die auch nach einem Wiederholungstest noch nicht eindeutig sind, sollten mit einer anderen Methode getestet werden, oder dem Patienten sollte eine neue Probe zum Testen entnommen werden.
Positiv	Vorliegen von nachweisbarem Igm-Antikörper. Es sollten weitere serologische Dengue-tests durchgeführt werden, um die Dengueinfektion zu bestätigen.

Empfohlene Angabe der erzielten Testresultate: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem Pambio Dengue Igm Capture ELISA erzielt. Mit anderen Testmethoden bestimmte Werte sind nicht untereinander austauschbar. Das den Cut-off-Wert übersteigende Messergebnis gibt nicht die vorhandene Gesamtmenge an Antikörpern an.“ Das Ergebnis ist als *positiv*, *negativ* oder *nicht eindeutig* zu bewerten und nicht als numerischer Wert anzugeben.

GRENZEN DES TESTS

- Die klinische Diagnose muss unter Beachtung der klinischen Anzeichen und Symptome des Patienten erfolgen. Die mit diesem Kit erzielten Ergebnisse stellen für sich keine Diagnose dar und sind in Kombination mit anderen klinischen Daten und Symptomen des Patienten auszuwerten.
- Die Seroprevalenz von Dengue in verschiedenen geographischen Regionen variiert. Folglich muss

der Cut-off-Wert möglicherweise basierend auf örtlichen Studien angepasst werden.

Es sollten keine Screeningtests der Allgemeinbevölkerung durchgeführt werden. Der Vorhersagewert eines positiven Ergebnisses hängt von der Wahrscheinlichkeit der Viruspräsenz ab. Tests nur an Patienten mit klinischen Symptomen oder bei Verdacht auf Exposition durchführen.

In der Flavivirusgruppe (d. h. zwischen Dengue 1, 2, 3 und 4, Japanischer Enzephalitis, Murray Valley-Enzephalitis, St. Louis-Enzephalitis, Gelbfieber und West-Nil-Viren) kommt es häufig zur serologischen Kreuzreaktivität. Diese Erkrankungen müssen vor Bestätigung der Diagnose ausgeschlossen werden.

Heterophile Antikörper sind bekannterweise die Ursache für Wechselwirkung bei Immunoassays. Durch diese Antikörper gegen Igm kann eine Kreuzreaktion mit Reagenzantikörpern auftreten und ein falsches Positiv-Ergebnis entstehen. Dies muss vor Bestätigung der Diagnose ausgeschlossen werden.

Die Leistungscharakteristika des Tests für visuelle Ergebnisbestimmungen wurden bisher nicht erforscht.

In diesem Assay werden exprimierte Insektenproteine eingesetzt. Die Kreuzreaktivität oder Wechselwirkung von humanen Antikörpern mit dem Pambio Dengue Igm Capture ELISA ist bei den Testergebnissen unbekannt.

Alle Seren, bei denen mit dem Pambio Dengue Igm Capture ELISA ein positives Ergebnis erzielt wurde, sollten zur Bestätigung des Igm-positiven Ergebnisses sowie zur epidemiologischen Erfassung an ein Referenzlabor gesendet werden.

Der Pambio Dengue Duo ELISA (07PE10) und der Pambio Dengue Igm Capture-ELISA (01PE10) sind hervorragend für die Igm-Bestimmung geeignet. Es wird sowohl beim Igm ELISA als auch beim Igm ELISA die Capture-Methode des Igm ELISA verwendet,

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

wodurch IgM und IgG mit einer gängigen Methode und einer gängigen Serumverdünnung bestimmt werden können.

ERWARTUNGSWERTE

Eine primäre Dengueinfektion ist gekennzeichnet durch hohe oder steigende IgM-Konzentrationen 3 – 5 Tage nach Einsetzen der Infektion, die über 3 – 5 Monate andauern kann. Die Sekundärinfektion ist durch den Anstieg von spezifischem IgG 1 – 2 Tage nach dem Einsetzen der Infektion gekennzeichnet und in den meisten Fällen (>70 %) geht dies mit einem Anstieg des IgM einher. In einem frühen Stadium und bei einigen Sekundärinfektionen können die IgM-Antikörperkonzentrationen gering sein. Es ist möglich, dass manche Patienten innerhalb der ersten sieben bis zehn Tage nach der Infektion keine nachweisbaren Antikörperkonzentrationen erzeugen. Wenn die Symptome weiterhin bestehen, empfehlen wir, den Patienten 7 Tage nach der ersten Probeentnahme erneut zu testen.

LEISTUNGSDATEN

255 gekennzeichnete Seren wurden mit dem Panbio Dengue IgM Capture ELISA im Rahmen einer internen Studie getestet. Die Seren umfassen 83 endemische seronegative Proben, 57 Proben von Patienten mit primärer Dengueinfektion und 115 Proben von Patienten mit sekundärer Dengueinfektion. Die Ergebnisse des Panbio Dengue IgM Capture ELISA wurden mit dem Dengue-Status der Seren verglichen, um die Sensitivität, Spezifität und Übereinstimmung des Assays mit dem relativen serologischen Dengue-Status zu bestimmen. Die Daten sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1

Dengue IgM – Serologische Sensitivität und Spezifität des Panbio ELISA im Vergleich zum Dengue-Status

Dengue Status	Panbio ELISA		
	Positiv	Nicht eindeutig ¹	Negativ
Seronegativ IgM (-) mit ELISA	0	0	83
Primärinfektion IgM (+) mit HAI	41	1	1
Primärinfektion IgM (+) mit ELISA	13	0	1
Sekundärinfektion IgG (+) mit HAI	41	11	34
Sekundärinfektion IgG (+) mit HAI	23	0	6
Gesamt	118	12	125

Serologische Sensitivität (Primär) = 54/57 = 94,7%
 Serologische Sensitivität (Sekundär) = 64/115 = 55,7%
 Serologische Spezifität (Negativ) = 83/83 = 100,0%
 Serologische Übereinstimmung (sekundäre Seren ausgeschlossen) = 137/140 = 97,9%

- ¹ Erneute Tests nicht eindeutiger Proben wurden nicht durchgeführt, da die Proben nicht verfügbar waren.
- ² Konfidenzintervall

REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit des Panbio Dengue IgM Capture ELISA Tests wurde anhand des Testens von 7 Seren nachgewiesen (je drei Tests mit je drei Panbio Chargen an drei verschiedenen Tagen). Die Genauigkeiten innerhalb des jeweiligen Testlaufs, im Tagesvergleich und im Chargenvergleich wurde mittels Varianzanalyse (ANOVA Typ II) ermittelt und wird in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2
Panbio Dengue IgM Capture ELISA Genauigkeitswerte (anhand des Indexwerts²)

Probe	n	Innerhalb des Testlaufs		Während des Tages		Chargenvergleich		Gesamt	
		*SA	VK	*SA	VK	*SA	VK	*SA	VK
Positiv	27	0,12	4,3%	0,05	1,7%	0,62	21,6%	0,53	18,6%
Schwachpositiv #1	27	0,06	5,7%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,09	5,3%
Negativ #2	27	0,36	16,7%	0,00	0,0%	0,16	45,2%	0,15	41,0%
#3	27	6,19	5,1%	0,12	1,9%	0,41	6,7%	0,48	7,7%
#4	27	5,91	2,1%	0,11	1,9%	0,52	8,6%	0,49	8,3%
#5	27	1,25	0,5%	0,00	0,0%	0,10	7,9%	0,10	7,7%
#6	27	1,33	0,7%	0,03	1,5%	0,07	5,4%	0,10	7,2%
#7	27	1,30	0,8%	0,00	0,0%	0,12	9,3%	0,13	9,8%
Gesamt	27	0,71	0,4%	0,00	0,0%	0,01	1,7%	0,04	6,0%
Gesamt	27	0,81	0,6%	0,00	0,0%	0,00	0,0%	0,06	7,3%

Alle Werte werden aus den Indexwerten berechnet (Cut-off anhand OD)
 SA = Standardabweichung; VK = Variationskoeffizient

- Hinweis:** Die Standardabweichung wurde aus Darstellungsgründen auf zwei Dezimalstellen gerundet.
 Der Indexwert wird durch Division der Probenextinktion durch den Cut-off-Wert berechnet.



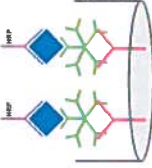
CROSS-REACTIVITY

Anhand von 115 Proben von Patienten mit nachgewiesenen Krankheiten (außer Denguefieber) wurde die analytische Spezifität des Panbio Dengue IgM Capture ELISA untersucht. Die Proben stammten von Patienten mit Krankheiten, bei denen es potenziell zu einer Kreuzreaktivität kommen kann. Jede der in der Studie verwendeten Proben wurde im Hinblick auf die Diagnose vor der Analyse mit dem Panbio Dengue IgM Capture ELISA charakterisiert. Während der Testserie wurde bei Malaria-, West-Nil-Viren- und Rheumafaktoren eine minimale Kreuzreaktivität beobachtet. Eine Übersicht der Ergebnisse finden Sie in Tabelle 3.









Tabelle 3

Krankheit	Panbio Dengue IgM Capture ELISA – Kreuzreaktivitätsanalyse	
	Proben gesamt	Positives Ergebnis
Epsstein-Barr-Virus	10	(0/10)
Malaria	10	(1/10)
Influenza A	7	(0/7)
Influenza B	3	(0/3)
Antinukleäre Antikörper	30	(0/30)
Rheumafaktor	10	(3/10)
Hepatitis A	9	(0/9)
Leptospira	7	(0/7)
Salmonella typhi	9	(0/9)
Tsutsugamushi-Fieber	10	(0/10)
West-Nil-Virus	10	(2/10)
Gesamt	115	(6/115)











PANBIO DENGUE IGM CAPTURE ELISA STÖRUNGSBEHEBUNG 01PE20/01PE21

ANTIGEN-FLÄSCHCHEN Stabilisierte Dengue-Antigene	ASSAYPLATTE Anti-Human-IgM
	
<p>1. 10 µl Antigen in 2,5 ml Antigen-Diluent geben und mischen. Verbleibendes unbenutztes Antigen sollte bei 2 – 8 °C gelagert werden.</p>	<p>3. 100 µl der verdünnten Proben und Kontrolllösungen auf die Assayplatte auftragen.</p>
<p>2. Das erforderliche Volumen des verdünnten Antigens entnehmen und mit der gleichen Menge Mab-Tracer in einem separaten Glas- oder Polypropylen-Fläschchen mischen. UNBENÜTZTES VERDÜNNTEST ANTIGEN ENTSORGEN.</p>	
<p>4a. 1 Stunde bei 20 – 25°C inkubieren. 4b. Assayplatte abdecken und bei 37°C ± 1°C eine Stunde inkubieren.</p>	
<p>5. Assayplatte 6 Mal waschen. Die Antigen-Mab-Lösung zum Mischen leicht drehen und 100 µl je Kavität auf die Assayplatte geben.</p>	
<p>6. Assayplatte abdecken und bei 37°C ± 1°C eine Stunde inkubieren.</p>	
<p>7. Assayplatte 6 Mal waschen. Nach Abschluss des letzten Spülzyklus 100 µl TMB je Kavität hinzugeben und zehn Minuten bei 20 – 25°C inkubieren. Reaktion mit 100 µl Stopplosung anhalten und bei 450 nm ablesen (Referenzwert: 600 – 650 nm).</p>	

GLOSSARY OF SYMBOLS / GLOSSAIRE DES SYMBOLES / GLOSARIO DE SÍMBOLOS / GLOSSARIO DEI SIMBOLI

	Manufacturer / Fabricant / Fabricante / Fabricante / Hersteller / Fabricante		Batch Code / Code de lot / N.º de lote / Código do lote / Chargennummer / Codice foto
	Authorised Representative in the European community / Représentant autorisé dans la Communauté européenne / Rappresentante autorizado en la Comunidad Europea / Rappresentante autorizzato na União Europeia / Autorisierte Vertretung in der Europäischen Gemeinschaft / Rappresentante autorizzato per la Comunità Europea		Temperature Limitation / Limites de température / Limite de temperatura / Limite de temperatura / Temperaturgrenze / Limiti di temperatura
	Catalogue Number / Numéro de référence / Número de catálogo / Numero de catálogo / Bestellnummer / Numero di catalogo		Use By / Date de péremption / Fecha de caducidad / Utilizar até / Verwendbar bis / Data di scadenza
	In Vitro Diagnostic Medical Device / Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i> / Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i> / <i>In-vitro</i> -Diagnostikum / Dispositivo medico per la diagnostica <i>in vitro</i>		Contains sufficient for X tests / Permet de réaliser X tests / Contenido suficiente para X pruebas / Contém o suficiente para X testes / Inhalt ausreichend für „n“ Ansätze / Contenuto sufficiente per X analisi

- 78 -

	CE marking according to IVD Medical Devices Directive 98/79/EC / Marquage CE conformément à la directive sur les dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> 98/79/CE / Marcado CE conforme a la Directiva 98/79/CE relativa a los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i> / Marcação CE de acordo com a Diretiva 98/79/CE relativa aos dispositivos médicos de diagnóstico <i>in vitro</i> / CE-Kennzeichnung gemäß der MD-Richtlinie 98/79/EG / Marchio CE in conformità alla Direttiva 98/79/CE relativa ai dispositivi medico- diagnostici <i>in vitro</i>		Positive Control / Contrôle positif / Control positivo / Controllo positivo / Positiv- kontrolle / Controllo positivo
	Caution / Mise en garde / Precaución / Atenção / Vorsicht / Attenzione		Negative Control / Contrôle négatif / Control negativo / Controllo negativo / Negativ- kontrolle / Controllo negativo
	Consult instructions for Use / Consulter le mode d'emploi / Consultar las instrucciones de uso / Consultar as instruções de utilização / Gebrauchsanweisung beachten / Consultare le istruzioni per l'uso		Reactive Control / Contrôle réactif / Control reactivo / Controllo reattivo / Reaktionskontrolle / Controllo reattivo
	Antigen Coated Microwells / Micropuits recouverts d'antigènes / Micropocillos revestidos de antígenos / Antigenbeschichtete Mikrotrichterstreifen / Micropozzeții investiti di antigeni		Calibrator / Étalon / Calibrador / Calibrador / Kalibrator / Calibratore
	Dengue Calibrator / Étalon pour la dengue / Calibrador del dengue / Calibrador de dengue / Dengue-Kalibrator / Calibratore Dengue		Dengue Calibrator / Étalon pour la dengue / Calibrador del dengue / Calibrador de dengue / Dengue-Kalibrator / Calibratore Dengue
	JE Calibrator / Étalon pour l'EJ / Calibrador de EJ / Calibrador de EJ (encalçante japonesa) / JE-Kalibrator / Calibratore JE		JE Calibrator / Étalon pour l'EJ / Calibrador de EJ / Calibrador de EJ (encalçante japonesa) / JE-Kalibrator / Calibratore JE

- 79 -

CONTROL CO CAL	Cut-off Calibrator / Etalon pour la valeur seuil / Calibrador de puntos de corte / Calibrador de cut-off / Cut-off-Kalibrator / Calibratore di cut-off	Ag DEN	Dengue 1-4 Antigen / Antigène de la dengue des sérogroupes 1 à 4 / Antígenos 1 a 4 del dengue / Antígeno de dengue 1-4 / Dengue 1-4 Antigen / Antigene Dengue 1-4
RE	Rheumatoid Factor / Facteur rhumatoïde / Factor reumatoide / Faktor reumatoide / Reaktivkontrolle / Fattore reumatoide	Ag JE	JE Antigen / Antigène de l'EJ / Antigéno de la EJ / Antígeno de EJ / JE-Antigen / Antigene JE
SAMP ABS	Sample Absorbent / Absorbant d'échantillon / Absorbente de la muestra / Absorbente da amostra / Dengue-Kalibrator / Assorbente campione	WASH BUF 20x	Wash Buffer 20x / Tampon de lavage (20x) / Tampón de lavado 20x / Tampão de lavagem (20x) / Waschpuffer (20x) / Tampone di lavaggio 20x
CONJ	Conjugate / Conjugué / Conjugado / Conjugado / Konjugat / Conjugato	SUBS TMB	Substrate Tetramethylbenzidine / Substrat de tétraméthylbenzidine / Substrato de tetrametilbenzidina / Substrato de tetrametilbenzidina / Substrat Tetramethylbezdin / Substrato tetrametilbenzidina (TMB)
SAMP DIL	Sample Diluent / Diluant d'échantillon / Diluyente para muestra / Diluyente da amostra / Probenabsorbens / Diluente campione	SOLN STOP	Stop Solution / Solution d'arrêt / Solución de parada / Solução de paragem / Stopplösung / Soluzione di arresto
Ag	Antigen / Antigène / Antigéno / Antigéno / Antigen / Antigene	AVD	Buffered Avidity Reagent / Reactif d'avidité tamponné / Reactivo de avidéz tamponado / Reagente de avidéz tamponado / Mit Aviditätsreagenz gepuffert / Reagente tampone di avidità
Ag DIL	Antigen Diluent / Diluant d'antigène / Diluyente para antígeno / Diluyente de antígeno / Antigenverdünnungspuffer / Diluente antígeno		

STÖRUNGSBEHEBUNG

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
1. Kreuzkontamination durch andere Proben.	Assay wiederholen und beim Waschen und Pipettieren besonders vorsichtig vorgehen, das Funktion des Waschautomaten prüfen.	Bei der Assay-Inkubation auf die richtige Dauer und Temperatur achten. Inkubator auf Einstellung der korrekten Temperatur prüfen.
2. Unzureichendes/ineffizientes Waschen oder Fehler beim Ablesen.	Funktion des Waschautomaten prüfen.	Test mit korrekten Verdünnungen und Mengen wiederholen. Sicherstellen, dass die Kontrollserien ausreichend gemischt sind.
3. Falsche Filterwellenlänge.	Die Wellenlänge muss 450 nm betragen. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.	Die Wellenlänge muss auf 450 nm eingestellt sein. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.
4. Hohe Hintergrundextinktion.	Assay unter Verwendung einer Kavität wiederholen, die nur Problemverdünnung oder Probenabsorptions enthält (d. h. Leerwertprobe).	Sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren. Umfüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen.
5. Kontaminiertes TMB-Substrat.	TMB-Substrat muss farblos oder leicht blau sein.	Alle zum Dispensieren von Konjugat verwendeten Pipetten und Sonden müssen sauber sein und dürfen kein Serum, Reinigungs- oder Bleichmittel enthalten.
6. Inkubationszeit zu lang oder Inkubationstemperatur zu hoch.	Inkubationszeit und Inkubator auf korrekte Temperatur prüfen.	
7. Falsche Verdünnung des Serums.	Assay mit korrekten Serumverdünnungen wiederholen.	

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
1. Inkubationszeit zu kurz oder Inkubationstemperatur zu niedrig.	Assay wiederholen und beim Waschen und Pipettieren besonders vorsichtig vorgehen, das Funktion des Waschautomaten prüfen.	Bei der Assay-Inkubation auf die richtige Dauer und Temperatur achten. Inkubator auf Einstellung der korrekten Temperatur prüfen.
2. Fehler bei der Verdünnung oder Pipettierung der Seren.	Funktion des Waschautomaten prüfen.	Test mit korrekten Verdünnungen und Mengen wiederholen. Sicherstellen, dass die Kontrollserien ausreichend gemischt sind.
3. Falsche Filterwellenlänge.	Die Wellenlänge muss 450 nm betragen. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.	Die Wellenlänge muss auf 450 nm eingestellt sein. Falls ein Spektrophotometer mit zwei Wellenlängen verfügbar ist, den Referenzfilter zwischen 600 und 650 nm einstellen.
4. Kontaminiertes Konjugat.	Sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren. Umfüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen.	Sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren. Umfüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
5. Verfallsdatum des Kits ist abgelaufen.	Assay wiederholen und beim Waschen und Pipettieren besonders vorsichtig vorgehen, das Funktion des Waschautomaten prüfen.	Verfallsdatum prüfen. Kit nicht verwenden, wenn das Verfallsdatum überschritten ist.
6. Hohe Ablesewerte bei der Luft-Leerwertprobe.	Funktion des Waschautomaten prüfen.	Ursachen für die hohe Hintergrundextinktion untersuchen.
7. Kit falsch gelagert.	Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/violett ist.	Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/violett ist.
8. Reagenzien des Kits nicht auf Raumtemperatur.	Reagenzien vor dem Assay ausreichend lange Raumtemperatur annehmen lassen.	Die Reagenzien vor dem Assay ausreichend lange Raumtemperatur annehmen lassen.
9. Falsche Reagenzien verwendet.	Überprüfen, ob die auf dem Sicherheitsdatenblatt angegebenen Reagenzien verwendet wurden.	Überprüfen, ob die auf dem Sicherheitsdatenblatt angegebenen Reagenzien verwendet wurden.
10. Platte zu lange gewaschen (z. B. langes Einweichen).	Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.	Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.
11. Platte nach dem Serum-Inkubationsschritt nicht ausreichend gewaschen (d. h. unzureichendes Reinigungs- oder Bleichmittel der Waschschriffe).		

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
1. Proben nicht ausreichend gemischt.	Reagenzien vorsichtig mischen und Raumtemperatur annehmen lassen.	Reagenzien vorsichtig mischen und Raumtemperatur annehmen lassen.
2. Ungenaue Pipette.	Pipettentechnik überprüfen – Pipettenspitze zwischen den einzelnen Proben wechseln und überschüssige Flüssigkeit von der Außenseite der Spitze abwischen.	Pipettentechnik überprüfen – Pipettenspitze zwischen den einzelnen Proben wechseln und überschüssige Flüssigkeit von der Außenseite der Spitze abwischen.
3. Hinzufügen von Reagenzien in unterschiedlichen Zeitabständen oder zu langsamem Hinzufügen.	Reagenzien in gleichmäßigen Zeitabständen hinzufügen. Alle Verdünnungen vor Beginn der Reagenzienzugabe ansetzen.	Reagenzien in gleichmäßigen Zeitabständen hinzufügen. Alle Verdünnungen vor Beginn der Reagenzienzugabe ansetzen.
4. Unzulänglicher Reagenzienzugabe.	Pipettentechnik und –geschwindigkeit verbessern.	Pipettentechnik und –geschwindigkeit verbessern.
5. Waschpuffer nach dem Waschen herausklopfen. Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.	Waschpuffer nach dem Waschen herausklopfen. Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.	Waschpuffer nach dem Waschen herausklopfen. Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.
6. Präzision des Lesers prüfen. Vorwärmperiode der Gebrauchsanleitung des Geräts einhalten.	Leser wurde vor dem Lesen der Platte nicht kalibriert oder nicht auf Betriebstemperatur gebracht.	Präzision des Lesers prüfen. Vorwärmperiode der Gebrauchsanleitung des Geräts einhalten.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Alle Kavitäten negativ	4. Kit falsch gelagert.	<ul style="list-style-type: none"> Verfahren prüfen und auf nicht verwendete Reagenzien achten. Die Stopplosung darf nicht vor dem Konjugat oder TMB zugegeben werden. Serum immer mit der richtigen Verdünnung verdünnen; z. B. für einen Igg-ELISA kein Probensorbens verwenden.
	5. Waschpuffer wurde mit Stopplösung anstelle von Waschpufferkonzentrat angesetzt.	<ul style="list-style-type: none"> Konjugat mithilfe einer sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren; Umrüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen. Alle zum Dispensieren von Konjugat verwendeten Pipetten und Sonden müssen sauber sein und dürfen kein Serum, Reinigungs- oder Bleichmittel enthalten. Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Alle Kavitäten negativ	1. Test nicht korrekt durchgeführt – falsche Reagenzien in der falschen Reihenfolge zugegeben.	<ul style="list-style-type: none"> Verfahren prüfen und auf nicht verwendete Reagenzien achten. Die Stopplosung darf nicht vor dem Konjugat oder TMB zugegeben werden. Serum immer mit der richtigen Verdünnung verdünnen; z. B. für einen Igg-ELISA kein Probensorbens verwenden.
	2. Kontaminierte Konjugatlösung.	<ul style="list-style-type: none"> Konjugat mithilfe einer sauberen Pipettenspitze direkt aus der Flasche dispensieren; Umrüllen des Konjugats in einen anderen Behälter möglichst vermeiden. Übrig gebliebenes Konjugat nicht wieder in die Flasche füllen. Alle zum Dispensieren von Konjugat verwendeten Pipetten und Sonden müssen sauber sein und dürfen kein Serum, Reinigungs- oder Bleichmittel enthalten. Assay mit dem empfohlenen Waschverfahren wiederholen.
	3. Platte zu lange gewaschen (z. B. langes Einweichen).	<ul style="list-style-type: none"> Verfahren prüfen und auf nicht verwendete Reagenzien achten. Die Stopplosung darf nicht vor dem Konjugat oder TMB zugegeben werden. Serum immer mit der richtigen Verdünnung verdünnen; z. B. für einen Igg-ELISA kein Probensorbens verwenden.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Alle Kavitäten sind gelb	4. Kit falsch gelagert.	<ul style="list-style-type: none"> Das Kit bei muss bei 2 – 8 °C gelagert werden. Überprüfen, ob die Platte versiegelt und der Beutel mit dem Trockenmittel blau/violett ist.
	5. Unzulänglicher Waschvorgang: Waschpufferreste in den Kavitäten; unzureichendes oder gleichmäßig gefällt und aspiriert werden.	<ul style="list-style-type: none"> Waschpuffer nach dem Waschen herausklippen. Darauf achten, dass die Kavitäten beim Waschen ausreichend und gleichmäßig gefüllt und aspiriert werden.
	6. Falls Konjugat-Rekonstitution – Fehler bei Konjugat-Rekonstitution.	<ul style="list-style-type: none"> Assay wiederholen und dabei auf Konjugat-Rekonstitution in Übereinstimmung mit dem Assay-Verfahren achten.

Problem	Mögliche Ursache	Untersuchung/Maßnahmen
Unzulängliche Duplikate	6. Optischer Pfad nicht sauber.	<ul style="list-style-type: none"> Unterseite der Platte vorsichtig abwischen. Überprüfen, ob Lichtquelle und Detektor sauber sind.
	7. Flüssigkeit aus den Kavitäten verschüttet.	<ul style="list-style-type: none"> Assay wiederholen. Dabei nicht an die Platte stoßen und keine Flüssigkeit verschütten.
	8. Serumproben weisen Kernwachstum, Hämolyse oder Lipamie auf.	<ul style="list-style-type: none"> Keine Serumproben mit Kernwachstum, Hämolyse oder Lipamie verwenden.
Alle Kavitäten sind gelb	9. Durch Verdunstung unethierliche Mengen in den Kavitäten.	<ul style="list-style-type: none"> Platte mit einem Deckel oder einer Abdichtfolie (nicht im Lieferumfang enthalten) verschließen.
	1. Kontaminiertes TMB-Substrat.	<ul style="list-style-type: none"> TMB-Substrat muss farblos oder leicht blau sein.
	2. Kontaminierte Reagenzien (z. B. Konjugat, Waschpuffer).	<ul style="list-style-type: none"> Reagenzien auf Trübung prüfen.
3. Falsche Verdünnung des Serums.	<ul style="list-style-type: none"> Assay mit korrekten Serumverdünnungen wiederholen. 	

**Technical support contact information / Coordonnées de l'assistance technique
 / Información de contacto del servicio de asistencia técnica / Informação
 de contacto para apoio técnico / Kontaktinformationen des technischen
 Kundendienstes / Informazioni relative al contatto per l'assistenza tecnica**

For further information, please contact your distributor or contact our support specialists: / Pour de plus amples informations, veuillez contacter votre fournisseur ou nos techniciens d'assistance : / Para obtener más información, póngase en contacto con su distribuidor o con los expertos en asistencia técnica: / Para mais informações, contacte o seu distribuidor ou especialistas de apoio: / Weitere Informationen erhalten Sie von dem für Sie zuständigen Vertriebspartner oder von unseren Kundendienstspezialisten: / Per ulteriori informazioni, contattate il distributore o i nostri specialisti addetti al supporto tecnico:

Region / Región / Região / Region / Regione	Phone / Téléphone / Teléfono / Telefone / Telefon / Telefono	E-Mail Address / Adresse e-mail / Dirección de correo electrónico / Endereço de e-mail / E-Mail-Adresse / Indirizzo e-mail
Europe & Middle East / Europe et Moyen-Orient / Europa y Oriente Medio / Europa e Médio Oriente / Europa und Naher Osten / Europa e Medio Oriente	+ 44 161 483 9032	EMEproductsupport@alere.com
Asia Pacific / Asie-Pacifique / Asia Pacifico / Asia-Pacífico / Asien-Pazifikraum / Gruppo Asia-Pacífico	+ 61 7 3363 7711	APproductsupport@alere.com
Africa, Russia, & CIS / Afrique, Russie et CEI / África, Rússia y CEI / África, Rússia e CEI / Afrika, Russland und GUS / Africa, Russia e Comunità degli Stati Indipendenti	+ 972 8 9429 683	APCISproductsupport@alere.com
Latin America / Amérique latine / América Latina / América Latina / Latínamerika / América Latina	+ 57 2 66 18797	LAproductsupport@alere.com

**BIBLIOGRAPHY / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA /
BIBLIOGRAFIA / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA**

1. U.S. Department of Health and Human Services: Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. (1999). p. 8–16. Ir (ed.) Richmond, VA, McKinney RW, Guidelines: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th Edition. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
2. Xu, H., Lohr, J. and Greiner, M. (1997). The selection of ELISA cutoff points for testing antibody to Newcastle disease by two-graph receiver operating characteristic (IG-ROC) analysis. *J. Immunol. Methods*, **208**(1):61–64.
3. Greiner, M., Söhr, D. and Gobel, P. (1995). A modified ROC analysis for selection of cutoff values and the definition of intermediate results in serodiagnostic tests. *J. Immunol. Methods*, **185**:123–132.
4. Seth, J. (1991). Standardisation and Quality Assurance. In: Principle and Practice of Immunoassay, Price, C.P. and Newman, D.J. (Eds), MacMillan, London

Manufactured by

STANDARD DIAGNOSTICS, INC.
05, Borkhagel-Str., 01229-01, Völpke-Str., Drosselg-Str., Republic of Korea
Tel: 82-31-879-2000 Fax: 82-31-879-2000
www.sdi.com



Authorized Representative:

MT Promedct Consulting GmbH

Alpenstrasse 59, D-66346 St. Leon-Rot Germany
Phone: +49 6304 581020, Fax: +49 6304 581021

Date issued: 2015_05
01PE20/01PE21-06-0

Panbio Dengue IgM Capture ELISA

Cat. No. 01PE20/01PE21



better tests for more people