

# **recomWell Yersinia IgG**

# **recomWell Yersinia IgA**

# **recomWell Yersinia IgM**

Enzymimmun-Test mit rekombinant produzierten Antigenen zur Bestimmung von IgG-, IgA- oder IgM-Antikörpern gegen **Yersinia enterocolitica** und **Yersinia pseudotuberculosis** in humanem Serum oder Plasma.

## **1. Allgemeines, Verwendungszweck**

Der **recomWell Yersinia** ist ein quantitativer in vitro Test zum Nachweis und zur sicheren Identifizierung von IgG-, IgA- oder IgM-Antikörpern gegen **Yersinia enterocolitica** und **Yersinia pseudotuberculosis** in humanem Serum oder Plasma. Der **recomWell Yersinia** ist ein Screening-Test nach dem Prinzip eines indirekten Sandwich-ELISAs.

## **2. Yersinia enterocolitica und Yersinia pseudotuberculosis**

Die humanpathogenen Erreger **Yersinia enterocolitica** und **Yersinia pseudotuberculosis** sind gramnegative Stäbchenbakterien aus dem Genus **Yersinia** der Familie der **Enterobacteriaceae**, die weltweit in gemäßigten und subtropischen Regionen vorkommen. Latent infizierte Warmblüter stellen das Reservoir dar, die Übertragung erfolgt oral durch kontaminiertes Wasser oder Nahrungsmittel.

Aufgrund von O-Antigenen ist eine serologische Differenzierung in ca. 60 **Y. enterocolitica**- und 7 **Y. pseudotuberculosis**-Stämme möglich (O-Serovare). Für **Y. enterocolitica**-Erkrankungen des Menschen sind in der Regel die Serovare 3 und 9 verantwortlich.

Die klinischen Symptome nach **Y. enterocolitica** und **Y. pseudotuberculosis**-Infektionen weisen Ähnlichkeiten auf. Es werden eine enteritische, eine „pseudoappendizitische“ und eine septikämische Verlaufsform unterschieden. Typische Symptome einer akuten **Yersinia enterocolitica**-Infektion sind Diarrhoe, Bauchschmerzen und Fieber. Während bei Kindern der Durchfall im Vordergrund steht, ist es bei älteren Patienten der Bauchschmerz, der eine akute Appendizitis vortäuschen kann.

**Als Komplikationen können akute reaktive Arthritiden, Erythema nodosum, akute Glomerulonephritis und Myocarditis auftreten. Für die Manifestation der akuten reaktiven Arthritis nach Yersinia-Infektion ist der genetische Marker HLA-B27 von Bedeutung. Etwa 70% der Patienten mit Yersinia-Arthritis haben das Merkmal HLA-B27.**

## **3. Diagnostik**

Als „Goldstandard“ der Serodiagnostik der Yersiniosen gilt der Nachweis agglutinierender Antikörper gegenüber den H- und O-Antigenen von **Y. enterocolitica** und **Y. pseudotuberculosis** (Widal). Nachgewiesen werden in diesem Test Antikörper der IgG- und IgM-Klasse, nicht aber IgA. In der Regel sind nur Ergebnisse der Untersuchung von mindestens zwei Seren (Nachweis eines Titeranstiegs) verwendbar. Kreuzreaktionen erschweren zudem die Diagnostik mit Hilfe des Widal.

Für die Yersiniosediagnostik wurde ein neues serologisches Verfahren entwickelt. Im **recomWell Yersinia** werden rekombinant hergestellte YOPs (**Yersinia outer membrane proteins**) eingesetzt, die für die Gattung **Yersinia** hochspezifisch sind. Diese YOPs sind an der Zelloberfläche lokalisiert und stellen plasmidcodierte Virulenzfaktoren dar, die nur von humanpathogenen **Yersinia**-Stämmen gebildet werden. Mit dem **recomWell Yersinia** können einzeln IgG-, IgA- oder IgM-Antikörper gegen diese YOPs nachgewiesen werden.

**Yersinia-IgG**-Titer persistieren über Jahre; nach Literaturangaben sind bei ca. 30% - 40% der Bevölkerung **Yersinia-IgG**-Antikörper als Durchseuchungstiter nachweisbar. Für **Yersinia IgA**-Antikörper wird ein Durchseuchungstiter von ca. 11 % angegeben. Bei der Untersuchung von 2000 Patientenseren in einem klinischen Labor wurde ein Anteil von ca. 50% IgG-positiver und ca. 25% IgA-positiver Patienten ermittelt.

Nach einer **Yersinia**-Infektion bilden sich - neben einem IgG-Titer - auch YOP-spezifische IgA- und IgM-Antikörper, die bei normalem Verlauf innerhalb von einigen Monaten wieder verschwinden oder zumindest in ihrem Titer sehr schwach werden. Diese charakteristischen IgA-Antikörpertiter können mit dem **recomWell Yersinia IgA** erfaßt werden und sind deswegen ein hilfreiches Indiz bei der Abklärung von reaktiven Arthritiden und weiteren Symptomen. Bei einem Verlauf der Infektion mit nachfolgenden

Komplikationen (reaktive Arthritis, Erythema nodosum, etc.) bleibt typischerweise ein hoher IgA-Titer, zum Teil über Jahre hin, bestehen, während der IgM-Titer innerhalb weniger Monate stark absinkt.

Der *recomBlot Yersinia* bzw. *recomLine Yersinia* weist gegenüber dem *recomWell Yersinia* zusätzliche Kriterien hinsichtlich Sensitivität und Spezifität auf. Er ermöglicht den Nachweis und die Identifizierung von IgG-, IgA- und IgM-Antikörpern und dient dazu, die Ergebnisse des Elisa zu bestätigen.

#### 4. Testprinzip

Die im *recomWell Yersinia* verwendeten Antigene werden gentechnologisch hergestellt. Dadurch kann eine optimale Darreichung ohne andere störende und kreuzreagierende Proteine erreicht werden. Nur die spezifischen und für die sensitive serologische Diagnostik wichtigen Antigene werden verwendet. Mit diesen Antigenen werden alle Serovare von *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis* erfaßt. Eine Kreuzreaktivität zu *Brucella* besteht nicht. IgG-, IgA- und IgM-Antikörper werden getrennt nachgewiesen und quantitativ ausgewertet.

#### 5. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen.

Jeder Reagenziensatz enthält:

<b>WASHBUF 10 X</b>	100 ml	Waschpuffer ( <b>zehnfach konzentriert</b> ) Enthält Phosphat-Puffer, NaCl und Detergenz. Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>DILUBUF</b>	125 ml	Verdünnungspuffer ( <b>gebrauchsfertig</b> ) Enthält Protein, Detergenz und blauen Farbstoff. Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>SUBS TMB</b>	12 ml	Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin (TMB, <b>gebrauchsfertig</b> )
<b>SOLN STOP</b>	12 ml	Stopplösung 25% Phosphorsäure (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
<b>INSTRU</b>	1	Gebrauchsinformation
<b>EVALFORM</b>	1	Auswertebogen
<b>TAPE</b>	2 Stück	Abdeckfolien

##### 5.1. *recomWell Yersinia IgG*

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 5 aufgeführten Komponenten:

<b>MTP</b>	12 x 8 Kavit.	Mikrotiterplatte (Riegel <b>rot</b> markiert) beschichtet mit rekombinanten <i>Y. enterocolitica</i> Antigenen im Vakuum-Druckverschlußbeutel
<b>CONTROL + IgG</b>	150 µl	Positive Kontrolle ( <b>Violette</b> Verschlußkappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL ± IgG</b>	150 µl	Cutoff Kontrolle ( <b>Gelbe</b> Verschlußkappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL - IgG</b>	150 µl	Negative Kontrolle ( <b>Weiß</b> e Verschlußkappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONJ IgG</b>	250 µl	Anti-human IgG Konjugat ( <b>101fach konzentriert, Rote</b> Verschlußkappe) Konservierungsstoff: Methylisothiazolon, Natriumazid, Chlorazetamid

## 5.2. recomWell Yersinia IgA

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 5 aufgeführten Komponenten:

<b>MTP</b>	12 x 8 Kavit.	Mikrotiterplatte (Riegel <b>blau</b> markiert) beschichtet mit rekombinanten Y. enterocolitica Antigenen im Vakuum-Druckverschlußbeutel
<b>CONTROL + IgA</b>	150 µl	Positive Kontrolle ( <b>Braune</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL ± IgA</b>	150 µl	Cutoff Kontrolle ( <b>Orange</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL - IgA</b>	150 µl	Negative Kontrolle ( <b>Weiß</b> e Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONJ IgA</b>	250 µl	Anti-human IgA Konjugat ( <b>101fach konzentriert, Blaue</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoff: Methylisothiazolon, Natriumazid, Chlorazetamid

## 5.3. recomWell Yersinia IgM

Jeder Reagenziensatz enthält zusätzlich zu den unter Punkt 5 aufgeführten Komponenten:

<b>MTP</b>	12 x 8 Kavit.	Mikrotiterplatte (Riegel <b>grün</b> markiert) beschichtet mit rekombinanten Y. enterocolitica Antigenen im Vakuum-Druckverschlußbeutel
<b>CONTROL + IgM</b>	150 µl	Positive Kontrolle ( <b>Schwarze</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL ± IgM</b>	150 µl	Cutoff Kontrolle ( <b>Farblose</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONTROL - IgM</b>	150 µl	Negative Kontrolle ( <b>Weiß</b> e Verschlusskappe) Konservierungsstoffe: Methylisothiazolon und Oxyprion.
<b>CONJ IgM</b>	250 µl	Anti-human IgM Konjugat ( <b>101fach konzentriert, Grüne</b> Verschlusskappe) Konservierungsstoff: Methylisothiazolon, Natriumazid, Chlorazetamid

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

Deionisiertes Wasser, Teströhrchen, Mikropipetten, Inkubationsschrank 37°C, Mikrotiterplatten-Photometer

## 7. Hinweise zum Test und den Reagenzien

### 7.1. Vorsichtsmaßnahmen

- ☞ Für die Herstellung der Kontrollseren wird Blut von Spendern verwendet, bei denen keine Antikörper gegen HIV 1/2, HCV und kein Hepatitis-Bs-Antigen nachgewiesen wurden. Da trotzdem eine Infektion nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden kann, muß das Produkt mit der gleichen Sorgfalt behandelt werden wie eine Patientenprobe.
- ☞ Während des gesamten Testablaufs müssen geeignete Einmalhandschuhe getragen werden.
- ☞ Die Konjugate, die Kontrollen, der Verdünnungspuffer und der Waschpuffer enthalten Konservierungsstoffe. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.
- ☞ Phosphorsäure ist reizend. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten unbedingt vermeiden.
- ☞ Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder mindestens 1 Stunde bei 121°C autoklaviert werden.

## 7.2. Hinweise zur Handhabung

Die Packungen tragen ein Verfallsdatum, nach dessen Erreichen keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden kann.

Es dürfen nur Einzelreagenzien verwendet werden, deren Chargennummer mit der entsprechenden Chargennummer auf dem Etikett der Kitverpackung übereinstimmt.

Der Test ist nur von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchzuführen.

Bei substantiellen Änderungen am Produkt, bzw. der Anwendungsvorschrift kann die Anwendung außerhalb der von MIKROGEN vorgegebenen Zweckbestimmung liegen.

Automatisierung ist möglich, nähere Informationen erhalten Sie von MIKROGEN.

## 7.3. Herstellung der Lösungen

Die Nachweisreagenzien reichen für 96 IgG-, IgM- oder IgA-Bestimmungen. Die unten genannten Mengenangaben beziehen sich jeweils auf die Bearbeitung von einem Mikrotiterplattenstreifen mit 8 Kavitäten. Bei der Verwendung von mehreren Mikrotiterplattenstreifen gleichzeitig müssen die angegebenen Mengen jeweils mit der Anzahl der verwendeten Mikrotiterplattenstreifen multipliziert werden.

Substrat und Stopplösung sind gebrauchsfertig.

### 7.3.1. Herstellung des gebrauchsfertigen Waschpuffers

Das Waschpuffer-Konzentrat wird **1 + 9** mit H<sub>2</sub>O deion. verdünnt. Pro einem Mikrotiterplattenstreifen mit 8 Kavitäten werden 5 ml Konzentrat mit 45 ml H<sub>2</sub>O deion. gemischt.

### 7.3.2. Herstellung der Konjugatlösung

Pro einem Mikrotiterplattenstreifen mit 8 Kavitäten werden 1 ml Verdünnungspuffer mit je 10 µl anti-human IgG Peroxidase-Konjugat (Rote Verschlusskappe) oder IgM Peroxidase-Konjugat (Grüne Verschlusskappe) oder IgA Peroxidase-Konjugat (Blaue Verschlusskappe) in einem sauberen Gefäß versetzt und gut gemischt (Verdünnung **1 + 100**).

## 7.4. Lagerung und Haltbarkeit

Die Reagenzien vor und nach Gebrauch bei 2°C - 8°C lagern.

Der gebrauchsfertige Waschpuffer kann auch in größerer Menge hergestellt werden. Der gebrauchsfertige Waschpuffer kann für die Verwendung bei weiteren Testen eine Woche bei Raumtemperatur gelagert werden.

Die Verdünnung der Proben, der Kontrollen sowie die Konjugatlösung müssen immer frisch zubereitet werden.

## 8. Probenmaterial

Das Probenmaterial kann Serum oder Plasma sein, das nach Entnahme möglichst rasch vom Blutkuchen getrennt wurde. Hitzeinaktivierte Proben führen zu erhöhten Hintergrundreaktionen, und dürfen daher nicht verwendet werden. Eine mikrobielle Kontamination der Probe ist unbedingt zu vermeiden. Unlösliche Stoffe sind vor der Inkubation durch Zentrifugation aus der Probe zu entfernen.

### Achtung!

**Sollen die Bestimmungen nicht sofort erfolgen, kann das Probenmaterial bis zu 2 Wochen bei 2°C - 8°C aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Proben ist durch Aufbewahrung bei -20°C oder tiefer möglich. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben wird wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate nicht empfohlen.**

## 9. Testdurchführung

### 9.1. Testvorbereitung

Vor Gebrauch sollen alle Reagenzien etwa 30 Minuten auf Raumtemperatur (18°C - 25°C) gebracht werden. Zur Vermeidung von Kondenswasserbildung in der Mikrotiterplatte muß diese **im verschlossenen Beutel** auf Raumtemperatur gebracht werden. Nach der Entnahme der benötigten Riegel soll die Platte im Beutel wieder verschlossen werden und in den Kühlschrank gegeben werden.

Vor Gebrauch die Kontrollseren und Patientenseren, sowie die konzentrierten Konjugate gut durchmischen und soweit möglich anschließend kurz abzentrifugieren, um die Flüssigkeit am Boden der Gefäße zu sammeln.

### 9.2. Vorbereitung der Proben und Kontrollen

In 1 ml Verdünnungspuffer werden jeweils 10 µl Probe bzw. Kontrolle pipettiert und gut gemischt (Verdünnung **1 + 100**). Bei jedem Testansatz müssen eine negative Kontrolle, eine Cutoff Kontrolle und eine Positive Kontrolle mitgeführt werden, die ebenso wie die Patientenproben verdünnt werden.

### 9.3. Inkubation der Proben

Die Mikrotiterplatte wird dem Druckverschlußbeutel entnommen.

Von den verdünnten Proben und verdünnten Kontrollen werden **100 µl** pro Kavität pipettiert. Dabei wird von der Negativen Kontrolle, der Positiven Kontrolle und den Patientenproben mindestens ein Wert angelegt, während die Cutoff Kontrolle doppelt angelegt werden muß. Vorzugsweise wird je eine Cutoff Kontrolle am Anfang der Serie und am Ende der Serie pipettiert.

Die Mikrotiterplatte wird bei manueller Abarbeitung **sorgfältig** mit Abdeckfolie **abgeklebt** und **1 Stunde** bei **37°C** inkubiert.

### 9.4. Waschen

Die Kavitäten werden vollständig geleert und anschließend **viermal** mit je 300 µl gebrauchsfertigem Waschpuffer pro Kavität gewaschen. Es wird empfohlen, diesen Schritt mit einem entsprechenden ELISA-Waschgerät durchzuführen. Es ist unbedingt darauf zu achten, daß der Waschpuffer zwischen den Waschschritten vollständig entfernt wird.

Nach Beenden des letzten Waschschrilles (auch bei Verwendung eines Waschgerätes) die Platte auf einem Papiertuch ausschlagen, um letzte Flüssigkeitsreste in den Kavitäten zu entfernen.

### 9.5. Inkubation mit Peroxidase-Konjugat

Von der verdünnten Konjugatlösung (s.7.3.2) werden **100 µl** pro Kavität pipettiert.

Die Mikrotiterplatte wird bei manueller Abarbeitung **sorgfältig** mit Abdeckfolie **abgeklebt** und **30 Minuten** bei **37°C** inkubiert.

### 9.6. Waschen

Die Kavitäten werden geleert und wie unter 9.4 gewaschen.

### 9.7. Substratreaktion

Die Substratlösung ist gebrauchsfertig.

Es werden **100 µl** pro Kavität pipettiert.

Die Mikrotiterplatte wird **30 Minuten** bei **Raumtemperatur** unter Schutz vor direkter Sonneneinstrahlung inkubiert. Die Zeit wird ab Pipettieren der ersten Kavität gerechnet.

### 9.8. Abstoppen der Reaktion

Zum Abstoppen der Reaktion werden **100 µl** Stopplösung pro Kavität pipettiert. Dabei ist dasselbe Pipettierschema wie beim Pipettieren der Substratlösung einzuhalten.

## 9.9. Messung der Extinktionen

Die Extinktionen der einzelnen Kavitäten werden in einem Mikrotiterplatten-Photometer bei **450 nm** und der Referenzwellenlänge **650 nm** (620 bis 650 nm zulässig) gemessen. Der Nullabgleich erfolgt gegen Luft. Die Messung muss innerhalb von 60 Minuten nach Abstoppen der Reaktion erfolgen.

## 10. Kurzanleitung der Testdurchführung

Verdünnungen:

- |  |                                   |  |
|--|-----------------------------------|--|
| • Verdünnung von Proben und Kontrollen | 1 + 100 mit Verdünnungspuffer     | 10 µl + 1 ml<br>je Probe bzw. Kontrolle      |
| • Konjugatverdünnung:                  | 1 + 100 mit Verdünnungspuffer     | 10 µl + 1 ml<br>je Mikrotiterplattenstreifen |
| • Waschpufferverdünnung:               | 1 + 9 mit H <sub>2</sub> O deion. | 5 ml + 45 ml<br>je Mikrotiterplattenstreifen |

Testschritte:

- |                       |                    |                           |
|-----------------------|--------------------|---------------------------|
| • Probeninkubation:   | 100 µl pro Kavität | 60 min bei 37°C           |
| • Waschschrift:       | 300 µl pro Kavität | viermal                   |
| • Konjugatinkubation: | 100 µl pro Kavität | 30 min bei 37°C           |
| • Waschschrift:       | 300 µl pro Kavität | viermal                   |
| • Substratinkubation: | 100 µl pro Kavität | 30 min bei Raumtemperatur |
| • Abstoppen:          | 100 µl pro Kavität |                           |
| • Photometrieren:     | 450 / 650 (620) nm |                           |

## 11. Validierung und Auswertung

### 11.1. Validierung

Cutoff Kontrolle: Von den Extinktionswerten der beiden Cutoffs (am Anfang und am Ende der Serie) wird der Mittelwert gebildet.

Der Test ist unter folgenden Bedingungen auswertbar:

Die einzelnen Extinktionswerte der Doppelbestimmung der Cutoff Kontrolle weichen nicht mehr als 20% von ihrem Mittelwert ab.

- |  |                                 |              |
|--|---------------------------------|--------------|
| • Extinktion negative Kontrolle  | $\leq 0,150$                    |              |
| • Extinktion Cutoff Kontrolle<br>( $E_{\text{Cutoff}} - E_{\text{neg. Kontr.}} \geq 0,050$ )   | - Extinktion negative Kontrolle | $\geq 0,050$ |
| • Extinktion positive Kontrolle<br>( $E_{\text{pos. Kontr.}} - E_{\text{Cutoff}} \geq 0,300$ ) | - Extinktion Cutoff Kontrolle   | $\geq 0,300$ |

### 11.2. Auswertung

#### 11.2.1. Qualitative Auswertung

Cutoff (Grenzwert): Extinktionsmittelwert der Cutoff Kontrolle

Graubereich:    untere Grenze = Cutoff  
                          obere Grenze = Cutoff + 20% (Cutoff x 1,2)

- Proben mit Extinktionswerten oberhalb des Graubereiches sind als **positiv** zu betrachten.
- Proben mit Extinktionswerten unterhalb des Graubereiches sind als **negativ** zu betrachten.
- Proben mit Extinktionswerten im Graubereich sind **grenzwertig**. Sie sollten erneut getestet werden. Sind sie nach dem zweiten Test wiederum grenzwertig, empfiehlt es sich, nach einiger Zeit eine weitere Probe zu nehmen und zu testen (vgl. 11.3).

### 11.2.2. Quantitative Auswertung

Den Extinktionswerten wird mit Hilfe einer Formel die entsprechende Antikörperaktivität in Units pro ml zugeordnet.

$$U/ml \text{ Probe} = (\text{Extinktion Probe} / \text{Extinktion Cutoff}) \times 20$$

$$\begin{aligned} \text{Graubereich: } \quad \text{untere Grenze} &= 20 \text{ U/ml} \\ &\text{obere Grenze} = 24 \text{ U/ml} \end{aligned}$$

- U/ml Probe > 24      **positives** Testergebnis
- U/ml Probe < 20      **negatives** Testergebnis
- $20 \leq U/ml \text{ Probe} \leq 24$       **grenzwertiges** Testergebnis

### 11.3. Hinweise zur Interpretation der Testergebnisse

Nach Frischinfektionen verschwinden IgM- und IgA-Antikörper innerhalb von drei bis sechs Monaten. Die IgG-Antikörper persistieren über Jahre. Bei chronischen Yersiniosen und immunpathologischen Komplikationen können - neben hohen IgG-Reaktivitäten - IgA-Titer über Jahre hin gefunden werden. Wichtig ist, daß für die Beurteilung einer IgA-Reaktivität die Ergebnisse der IgG- und IgM-Nachweise mit in die Beurteilung einbezogen werden.

Proben mit grenzwertigen Ergebnissen sollten in Abhängigkeit von der klinischen Situation nach 3 - 5 Wochen kontrolliert werden; bei Kindern ist grundsätzlich der parallele Ansatz der klassischen Widal-Reaktion zu empfehlen.

Isoliert positive IgA-Nachweise bedürfen sorgfältiger Interpretation. Hier kann es sich um eine frische Infektion oder langfristig persistierende Antikörper handeln.

Eine Interpretationshilfe stellt auch die folgende Tabelle dar:

**Tabelle 1:**

IgG	IgM	IgA	Interpretation
positiv	negativ	negativ	Lang zurückliegende Infektion (6 Monate bis Jahre); Prävalenz.
positiv	positiv (Titerabfall 3-6 Monate)	positiv (Titerabfall 3-6 Monate)	V. a. frische Infektion
positiv	Titerabfall nachgewiesen oder negativ	positiv, persistierend! (z.T. über Jahre)	V.a. Yersinien induzierte Arthritis; Kontrolle nach 6 Monaten empfohlen.
positiv	Titerabfall nachgewiesen od. negativ	Titerabfall nachgewiesen od. negativ	Kurz zurückliegende Infektion (Monate) Rekonvaleszenz
negativ	negativ	positiv	Frische Infektion oder persistierende Antikörper.

Für alle Testinterpretationen, besonders aber bei schwachpositiven Resultaten, ist die Einbeziehung klinischer Informationen unerlässlich. Es empfiehlt sich auch hier eine enge Kooperation von Labor und behandelndem Arzt.

IgG-Titer persistieren über Jahre; nach Literaturangaben sind bei ca. 30 - 40 % der Bevölkerung Yersinia IgG-Antikörper als Durchseuchungstiter nachweisbar. Für Yersinia IgA-Antikörper wird ein Durchseuchungstiter von ca. 11 % angegeben. Das entsprechende serologische Bild stellt sich typischerweise folgendermaßen dar: IgG-Antikörper gegen das 36 kDa YOP und möglicherweise weitere YOPs, keine oder schwache IgA-Antikörperreaktion sowie fehlende IgM-Antikörperantwort.

Das typische serologische Bild einer Yersinien induzierten reaktiven Arthritis ist ein hoher IgG- und IgA-Titer bei einer schwachen oder fehlenden IgM-Antikörper Reaktivität.

## 12. Klinische Ergebnisse

Es wurde keine Störung des Tests durch Rheumafaktor-positive Seren (n=50), ANA positive Seren (n=50) und EBV-IgM positive Seren (n=20) beobachtet.

### 12.1. Verteilung der Reaktivitäten

Tabelle 2:

	Anzahl	Beurteilung	IgG	IgA	IgM
<b>Yersinia-Seren mit positiven Vorbefunden</b>		positiv	100 %	72 %	21 %
(Verdacht auf Yersinien induzierte reaktive Arthritiden)	n=29	fraglich	0 %	7 %	7 %
		negativ	0 %	21 %	72 %
		positiv	32 %	9 %	1 %
		fraglich	3 %	2 %	1 %
Blutspender-Seren	n=217	negativ	65 %	89 %	98 %
		<b>Prävalenz:</b>	<b>35 %</b>	<b>11 %</b>	<b>2 %</b>

**Tabelle 3:** Vergleich des Widal Agglutinationstests mit dem *recomWell Yersinia* und *recomLine Yersinia*. Angabe der Widal-Resultate in Titerstufen. Angabe der *recomWell*-Resultate in Units. Graue Felder = positive Resultate und weiße Felder = negative Resultate.

Serum	Widal			<i>recomWell Yersinia</i>			<i>recomLine Yersinia</i>		
	Serotyp			IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
	<i>Y. ent.</i>	O3	O9						
1	1:1600	<1:100	<1:100	215	171	296	positiv	positiv	positiv
2	1:800	<1:100	<1:100	118	112	296	positiv	positiv	positiv
3	1:200	<1:100	<1:100	215	171	296	positiv	positiv	positiv
4	1:800	<1:100	<1:100	215	171	296	positiv	positiv	positiv
5	1:400	<1:100	<1:100	215	171	155	positiv	positiv	positiv
6	<1:100	1:100	<1:100	215	64	68	positiv	positiv	positiv
7	<1:100	<1:100	<1:100	218	55	12	positiv	positiv	negativ
8	<1:100	<1:100	<1:100	218	117	16	positiv	positiv	negativ
9	<1:100	<1:100	<1:100	198	110	10	positiv	positiv	negativ
10	<1:100	<1:100	<1:100	147	150	10	positiv	positiv	negativ
11	<1:100	<1:100	<1:100	218	74	13	positiv	positiv	negativ
12	<1:100	<1:100	<1:100	218	47	11	positiv	positiv	negativ
13	<1:100	<1:100	<1:100	218	50	11	positiv	positiv	negativ
14	<1:100	<1:100	<1:100	254	74	10	positiv	positiv	negativ
15	<1:100	<1:100	<1:100	33	8	11	positiv	negativ	negativ
16	<1:100	<1:100	<1:100	94	7	11	positiv	negativ	negativ
17	<1:100	1:200	<1:100	85	13	19	positiv	negativ	negativ
18	<1:100	<1:100	<1:100	51	6	13	positiv	negativ	negativ
19	<1:100	<1:100	<1:100	6	4	8	negativ	negativ	negativ
20	<1:100	<1:100	<1:100	6	7	12	negativ	negativ	negativ

### 12.2. Präzision

	IgG / IgM
Intra-Assay (n = 24)	VK < 8%
Inter-Assay (n = 10)	VK < 12%

**13. Literatur**

Die ausführliche Literaturliste finden Sie im englischen Teil der Gebrauchsinformation ab Seite 3.

Auf Anforderung übersenden wir Ihnen gerne weiterführende Literatur zur Yersinia enterocolitica Diagnostik zu.

**14. Erklärung der Symbole**

Die Tabelle mit der Erklärung der Symbole finden Sie im englischen Teil der Gebrauchsinformation auf Seite 3.

# **recomWell Yersinia IgG**

# **recomWell Yersinia IgA**

# **recomWell Yersinia IgM**

Enzyme immunoassay with recombinant antigens for the detection of IgG, IgA or IgM antibodies against **Yersinia enterocolitica** and **Yersinia pseudotuberculosis** in human serum or plasma.

## **1. General aspects, intended use**

**recomWell Yersinia** is a quantitative in vitro test for the detection and safe identification of IgG, IgA or IgM antibodies against *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in human serum or plasma. **recomWell Yersinia** is a screening test based on the principle of an indirect sandwich ELISA.

## **2. Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis**

*Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* are gram-negative, rod-shaped pathogenic bacteria of the genus *Yersinia*, belonging to the family Enterobacteriaceae. They occur world-wide in moderate and subtropical regions. Latently infected warm-blooded animals represent the reservoir; transmission occurs orally by contaminated water or food.

Based on the presence of O antigens, a serological differentiation into approx. 60 *Y. enterocolitica* strains and 7 *Y. pseudotuberculosis* strains is possible (O serotypes). The serotypes 3 and 9 are usually responsible for *Y. enterocolitica* diseases in human beings.

The clinical symptoms after infection with *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* show similarities. A distinction is made between enteritic, "pseudoappendicitic", and septicaemic disease forms. Typical symptoms of an acute *Yersinia enterocolitica* infection are diarrhoea, stomach ache, and fever. While diarrhoea is the main symptom in children, older patients suffer from stomach ache which can be taken for acute appendicitis.

**Complications such as acute reactive arthritis, erythema nodosum, acute glomerulonephritis, and myocarditis can occur. The genetic marker HLA-B27 is of importance for the manifestation of acute reactive arthritis after Yersinia infection. About 70 % of patients with Yersinia arthritis have the marker HLA-B27.**

## **3. Diagnosis**

In the serological diagnosis of *Yersinia* infections, the detection of agglutinating antibodies against the H and O antigens of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* (Widal) is regarded as the "gold standard". The antibodies detected in this test are of the IgG and IgM class, but not IgA. As a rule, only the results of the analysis of at least two sera (detection of a titer increase) can be used. Furthermore, cross reactions impede diagnosis according to Widal.

A new serological process has been developed for the diagnosis of *Yersinia* infections. The **recomWell Yersinia** uses YOPs (*Yersinia* outer membrane proteins) that are produced by recombinant techniques and are highly specific for the genus *Yersinia*. These YOPs are localised on the cell surface and represent plasmid-coded virulence factors that are formed only by *Yersinia* strains that are pathogenic for human beings. Separate detection of IgG, IgA, or IgM antibodies against these YOPs can be achieved with **recomWell Yersinia**.

*Yersinia* IgG titers persist over a period of years. According to the literature, *Yersinia* IgG antibodies are detectable in approx. 30 – 40 % of the population. With respect to *Yersinia* IgA antibodies about 11% of the population are positive. Analysis of 2,000 patient sera in a clinical laboratory resulted in about 50% IgG-positive and approx. 25% IgA-positive patients.

Apart from an IgG titer, YOP-specific IgA and IgM antibodies are also formed after a *Yersinia* infection. In the normal course of the disease, these antibodies disappear or at least show a very weak titer within a few months. With **recomWell Yersinia**, these characteristic IgA antibody titers can be detected and, consequently, provide helpful evidence for the clarification of reactive arthritis and other symptoms. If the course of infection involves subsequent complications (reactive arthritis, erythema nodosum etc.), the IgA titer remains typically high, sometimes over a period of years, while the IgM titer falls rapidly within a few months.

The *recomLine* Yersinia test includes more criteria for sensitivity and specificity than *recomWell* Yersinia. It provides for detection and identification of IgG, IgA and IgM antibodies and can be used to confirm ELISA results.

#### 4. Test principle

The antigens used in **recomWell Yersinia** are made by genetic engineering techniques. In this way, an optimal presentation without other interfering and cross reacting proteins can be achieved. Only specific antigens that are important for the sensitive serological diagnosis are used. All serotypes of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* are detected with these antigens. Cross reactivity with *Brucella* does not occur. Indeed, IgG, IgA, and IgM antibodies are separately detected and quantitatively evaluated.

#### 5. Package contents

The reagents in one pack are sufficient for 96 determinations.

Each reagent set contains:

<b>WASHBUF 10 X</b>	100 ml	Wash buffer ( <b>ten times the concentration</b> ) Contains phosphate buffer, NaCl and detergent, Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrione
<b>DILUBUF</b>	125 ml	Dilution buffer ( <b>ready-for-use</b> ) Contains protein, detergent and blue dye Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrione
<b>SUBS TMB</b>	12 ml	Chromogenic substrate tetramethylbenzidine (TMB, <b>ready-for-use</b> )
<b>SOLN STOP</b>	12 ml	Stop solution 25 % Phosphoric acid (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> )
<b>INSTRU</b>	1	Instructions for use
<b>EVALFORM</b>	1	Evaluation form
<b>TAPE</b>	2 pieces	Sealing tape

##### 5.1. *recomWell* Yersinia IgG

Additionally to the components listed under point 5 each reagent set contains:

<b>MTP</b>	12 x 8 wells	Microplate (section marked in <b>red</b> ) coated with recombinant <i>Y. enterocolitica</i> antigens in vacuum-pressure sealed bag
<b>CONTROL + IgG</b>	150 µl	Positive control ( <b>violet</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrione
<b>CONTROL ± IgG</b>	150 µl	Cutoff control ( <b>yellow</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrione
<b>CONTROL - IgG</b>	150 µl	Negative control ( <b>white</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrione
<b>CONJ IgG</b>	250 µl	Anti-human IgG conjugate ( <b>101 times the concentration, red</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone, sodium azide and chloroacetamide

## 5.2. recomWell Yersinia IgA

Additionally to the components listed under point 5 each reagent set contains:

<b>MTP</b>	12 x 8 wells	Microplate (section marked in <b>blue</b> ) coated with recombinant <i>Y. enterocolitica</i> antigens in vacuum-pressure sealed bag
<b>CONTROL + IgA</b>	150 µl	Positive control ( <b>brown</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONTROL ± IgA</b>	150 µl	Cutoff control ( <b>orange</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONTROL - IgA</b>	150 µl	Negative control ( <b>white</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONJ IgA</b>	250 µl	Anti-human IgA conjugate ( <b>101 times the concentration, blue</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone, sodium azide and chloroacetamide

## 5.3. recomWell Yersinia IgM

Additionally to the components listed under Point 5 each reagent set contains:

<b>MTP</b>	12 x 8 wells.	Microplate (section marked in <b>green</b> ) coated with recombinant <i>Y. enterocolitica</i> antigens in vacuum-pressure sealed bag
<b>CONTROL + IgM</b>	150 µl	Positive control ( <b>black</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONTROL ± IgM</b>	150 µl	Cutoff control ( <b>colourless</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONTROL - IgM</b>	150 µl	Negative control ( <b>white</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone and oxypyrrione
<b>CONJ IgM</b>	250 µl	Anti-human IgM conjugate ( <b>101 times the concentration, green</b> screw cap) Preservatives: methylisothiazolone, sodium azide and chloroacetamide

## 6. Additional reagents and accessory equipment required

Deionised water, test tubes, micro pipettes, incubator 37°C, microplate photometer

## 7. Information on test and reagents

### 7.1. Precautions

- ☞ Control sera are from blood donors verified for the absence of antibodies to HIV 1/2, HCV and no Hepatitis Bs-antigen. Since an infection cannot be excluded with absolute certainty despite this precaution, the product must be treated with the same care as the patient sample.
- ☞ Suitable single-use gloves must be worn during the entire test procedure.
- ☞ The conjugates, controls, dilution buffer and wash buffer contain preservative agents. Avoid contact with skin or mucosa.
- ☞ Phosphoric acid is an irritant. Avoid all contact with skin or mucosa.
- ☞ All reagents and materials contaminated with potentially infectious samples must be treated with suitable disinfectants or autoclaved at 121°C for at least 1 hour.

## 7.2. Handling information

A quality guarantee can only be given up to the expiry date on the packages.

Only reagents with lot numbers corresponding to the respective lot number on the label of the kit package may be used.

The test must be performed by well-trained and authorised qualified personnel.

In case of substantial modifications of the product or the instructions for use, the application of the test might differ from the purpose intended by MIKROGEN.

Automation is possible, please refer to MIKROGEN for details.

## 7.3. Preparation of the solutions

The test reagents are sufficient for 96 IgG, IgA or IgM tests. The amounts indicated below refer to processing of a microplate strip with 8 wells. If several microplate strips are used at the same time, the amounts indicated must be multiplied by the number of microplate strips used.

Substrate and stop solution are ready to use.

### 7.3.1. Preparation of ready-to-use wash buffer

The wash buffer concentrate is diluted **1 + 9** with deionised H<sub>2</sub>O. 5 ml concentrate are mixed with 45 ml deionised H<sub>2</sub>O per microplate strip with 8 wells.

### 7.3.2. Preparation of conjugate solution

Per each microplate strip with 8 wells, 10 µl anti-human IgG peroxidase conjugate (red cap) or IgA peroxidase conjugate (blue cap) resp. IgM peroxidase conjugate (green cap) are added to 1 ml dilution buffer in a clean vessel and mixed well (dilution **1 + 100**).

## 7.4. Storage and stability

Store the reagents at **2°C - 8°C** before and after use.

The ready-to-use wash buffer can be prepared in larger amounts. Ready-to-use wash buffer may be stored at room temperature for one week for use in further tests.

The sample dilutions, controls and conjugate solution must always be prepared freshly.

## 8. Sample material

The sample material can be serum or plasma that is separated from the coagulum as soon as possible after sampling. Heat-inactivated samples will result in raised background reaction levels and are therefore unsuitable for use. A microbial contamination of the sample has to be avoided at all costs. Insoluble substances must be removed from the sample prior to incubation by centrifugation.

### Important!

**If the tests are not carried out immediately, the samples can be stored for up to 2 weeks at 2°C - 8°C. Longer storage of the samples is possible at -20°C or below. Repeated freezing and thawing of the samples is not recommended because this may affect the quality of the results.**

## 9. Test procedure

### 9.1. Test preparations

Temper all reagents to room temperature (18°C - 25°C) before use for about 30 minutes. To avoid condensation of water in the microplate, it must be brought up to room temperature **in the closed bag**. After the required section is removed, the bag containing the plate must be reclosed and placed in the refrigerator.

Before use, the control and patient sera and concentrated conjugates must be mixed well and briefly centrifuged if practicable to collect the liquid at the bottom of the tubes.

## 9.2. Preparation of samples and controls

Pipette 10 µl of sample or control into 1 ml dilution buffer each and mix well (dilution **1 + 100**). A negative control, cutoff control and positive control must be run parallel to each test run and diluted just like the patient samples.

## 9.3. Incubation of the samples

The microplate is removed from the pressure-sealed bag.

Pipette **100 µl** per well of the diluted samples and diluted controls. One value is tested for each negative control, positive control and patient sample, whereas the cutoff control must be double-tested. It is preferable to pipette one cutoff control at the beginning and again at the end of the series.

In manual processing, the microplate is **carefully taped** over with sealing tape and incubated for **1 hour** at **37°C**.

## 9.4. Washing procedure

The wells are emptied completely, then washed **four times**, each time with 300 µl ready-to-use wash buffer per well. We recommend performing this step with the appropriate ELISA washing equipment. Make absolutely sure that the wash buffer is removed completely between the washing steps.

After the last washing step is completed (even if washing equipment is being used) tap the plate over a paper towel to remove any residual liquid from the wells.

## 9.5. Incubation with peroxidase conjugate

Pipette **100 µl** per well.

In manual processing, the microplate is **carefully taped** over with sealing tape and incubated for **30 minutes** at **37°C**.

## 9.6. Washing procedure

The wells are emptied and washed as described under 9.4.

## 9.7. Substrate reaction

The substrate solution is ready to use.

Pipette **100 µl** per well.

The microplate is incubated for **30 minutes** at **room temperature** while protecting it from direct sunlight. The time is counted from pipetting of the first well.

## 9.8. Stopping the reaction

To stop the reaction, pipette **100 µl** of stop solution per well, using the same pipetting scheme as for the substrate solution.

## 9.9. Measurement of the extinctions

The extinction in the individual wells are measured in a microplate photometer at **450 nm** and at the reference wavelength **650 nm** (620 to 650). Blank on air. Measurement should be performed within 60 minutes after stopping the reaction.

## 10. Summary of the test procedure

Dilutions:

- |                                    |                                       |                                       |
|------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| • Dilution of samples and controls | 1 + 100 with dilution buffer          | 10 µl + 1 ml per sample resp. control |
| • Conjugate dilution:              | 1 + 100 with dilution buffer          | 10 µl + 1 ml per microplate strip     |
| • Wash buffer dilution:            | 1 + 9 with deionised H <sub>2</sub> O | 5 ml + 45 ml per microplate strip     |

Test steps:

- |                         |                    |                            |
|-------------------------|--------------------|----------------------------|
| • Sample incubation:    | 100 µl per well    | 60 min at 37°C             |
| • Washing step:         | 300 µl per well    | four times                 |
| • Conjugate incubation: | 100 µl per well    | 30 min at 37°C             |
| • Washing step:         | 300 µl per well    | four times                 |
| • Substrate incubation: | 100 µl per well    | 30 min at room temperature |
| • Stopping:             | 100 µl per well    |                            |
| • Photometry:           | 450 / 650 (620) nm |                            |

## 11. Validation and evaluation

### 11.1. Validation

Cutoff control: The average value of the extinction values for the two cutoffs (at the beginning and end of the series) is obtained.

The test can be evaluated under the following conditions:

The individual extinction values for double-testing of the cutoff control deviate from their average value not more than 20%.

- |  |                               |              |
|--|-------------------------------|--------------|
| • Extinction negative control  | $\leq 0.150$                  |              |
| • Extinction cutoff control<br>( $E_{\text{cutoff}} - E_{\text{neg. contr.}} \geq 0.050$ )   | - Extinction negative control | $\geq 0.050$ |
| • Extinction positive control<br>( $E_{\text{pos. contr.}} - E_{\text{cutoff}} \geq 0.300$ ) | - Extinction cutoff control   | $\geq 0.300$ |

### 11.2. Evaluation

#### 11.2.1. Qualitative evaluation

Cutoff (boundary value): Extinction average for cutoff control

Grey range: Lower limit = Cutoff  
Upper limit = Cutoff + 20% (cutoff x 1.2)

- Samples with extinction values above the grey range are to be considered **positive**.
- Samples with extinction values below the grey range are to be considered **negative**.
- Samples with extinction values in the grey range are **borderline** and should be retested. If they are still borderline after the second test, it is recommended that an additional sample should be taken after a period of time and retested (cf. 11.3).

#### 11.2.2. Quantitative evaluation

The antibody activity levels in units per ml are assigned to the extinction values using a formula.

U/ml sample = (extinction sample / extinction cutoff) x 20

Grey range: Lower limit = 20 U/ml  
Upper limit = 24 U/ml

- U/ml sample > 24 **positive** test result
- U/ml sample < 20 **negative** test result
- $20 \leq \text{U/ml sample} \leq 24$  **borderline** test result

### 11.3. Directions for the interpretation of test results

After fresh infections, IgM and IgA antibodies disappear within three to six months. The IgG antibodies persist over a period of years. In the case of chronic Yersinia infections and immunopathological complications, apart from high IgG reactivities, IgA titers can be found over a period of years. For the evaluation of IgA reactivity, it is important that the results of the IgG and IgM detection are included in the evaluation.

Samples with borderline results should be controlled again after 3 - 5 weeks, depending on the clinical situation. In the case of children, it is always recommended that the classical Widal reaction be run parallel to this test.

Isolated positive IgA results require careful interpretation. These results can be due to short-term or long-term persistent antibodies.

The following table serves as an aid for interpretation of the results:

**Table 1:**

IgG	IgM	IgA	Interpretation
positive	negative	negative	past infection (at least 6 months up to years); Seroprevalence
positive	positive (titer decrease 3-6 months)	positive (titer decrease 3-6 month)	fresh infection
positive	verified titer decrease or negative	positive, persisting (partly over years)	mainly Yersinia induced Arthritis; control after 6 months recommended.
positive	verified titer decrease or negative	verified titer decrease or negative	shortly past infection (months) convalescence
negative	negative	positive	fresh infection or persisting antibodies

For all test interpretations, it is essential that clinical information be included, especially in the case of weakly positive results. Close cooperation between the laboratory and the physician in charge is also recommended.

Yersinia IgG titers persist over a period of years. According to the literature, Yersinia IgG antibodies are detectable in approx. 30 – 40 % of the population. With respect to Yersinia IgA antibodies about 11% of the population are positive. A typical corresponding serological picture is as follows: IgG antibodies to the 36 kDa YOP and possible other YOPs, no IgA antibody response or only a weak one and no IgM antibody response.

The typical serological picture of a Yersinia-induced reactive arthritis includes high IgG and IgA titers and weak or lacking IgM antibody reactivity.

## 12. Clinical results

No interference was observed by the use of rheumatic factor positive sera (n=50), ANA positive sera (n=50) and EBV-IgM positive sera (n=20).

### 12.1. Allocation of reactivities

Table 2:

	Number	results	IgG	IgA	IgM
Yersinia positive sera (pre-tested positive, suspect of Yersinia induced reactive Arthritis)	n=29	positive	100 %	72 %	21 %
		equivocal	0 %	7 %	7 %
		negative	0 %	21 %	72 %
Blood donor sera	n=217	positive	32 %	9 %	1 %
		equivocal	3 %	2 %	1 %
		negative	65 %	89 %	98 %
		<i>Prevalence:</i>	<i>35 %</i>	<i>11 %</i>	<i>2 %</i>

Table 3: Comparison of the Widal agglutination test with *recomWell Yersinia* and *recomLine Yersinia*. Widal results are displayed as titers. *recomWell Yersinia* results are displayed as Units. Grey fields = positive results and white fields = negative results.

Serum	Widal								
	Serotyp			<i>recomWell Yersinia</i>			<i>recomLine Yersinia</i>		
	<i>Y. ent.</i>	<i>Y. pseud.</i>	Typ1	IgG	IgA	IgM	IgG	IgA	IgM
1	1:1600	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
2	1:800	<1:100	<1:100	118	112	296	positive	positive	positive
3	1:200	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
4	1:800	<1:100	<1:100	215	171	296	positive	positive	positive
5	1:400	<1:100	<1:100	215	171	155	positive	positive	positive
6	<1:100	1:100	<1:100	215	64	68	positive	positive	positive
7	<1:100	<1:100	<1:100	218	55	12	positive	positive	negative
8	<1:100	<1:100	<1:100	218	117	16	positive	positive	negative
9	<1:100	<1:100	<1:100	198	110	10	positive	positive	negative
10	<1:100	<1:100	<1:100	147	150	10	positive	positive	negative
11	<1:100	<1:100	<1:100	218	74	13	positive	positive	negative
12	<1:100	<1:100	<1:100	218	47	11	positive	positive	negative
13	<1:100	<1:100	<1:100	218	50	11	positive	positive	negative
14	<1:100	<1:100	<1:100	254	74	10	positive	positive	negative
15	<1:100	<1:100	<1:100	33	8	11	positive	negative	negative
16	<1:100	<1:100	<1:100	94	7	11	positive	negative	negative
17	<1:100	1:200	<1:100	85	13	19	positive	negative	negative
18	<1:100	<1:100	<1:100	51	6	13	positive	negative	negative
19	<1:100	<1:100	<1:100	6	4	8	negative	negative	negative
20	<1:100	<1:100	<1:100	6	7	12	negative	negative	negative

### 12.2. Precision





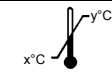
	IgG / IgM
Intra-Assay (n = 24)	VK < 8%
Inter-Assay (n = 10)	VK < 12%

### 13. Literature

- (1) Michale Hammer und Jürgen Wollenhaupt **Postenteritische reaktive Arthritiden und Spondarthritisiden.** *Deutsches Ärzteblatt* 1995, 92 (41):2738-2749
- (2) Riita Lahesmaa, Marie-Claude Shanafelt, Lawrence Steinman and Gary Peltz **Immunopathogenesis of Human Inflammatory Arthritis: Lessons from Lyme and Reaktive Arthritis.** *The Journal of Infectious Diseases* 1994, 170:978-985
- (3) Josef Cremer, Michael Putzker, Michael Faulde und Lothar Zöller **Immunoblotting of Yersinia plasmid-encoded released proteins: A tool for serodiagnosis.** *Electrophoresis* 1993, 14:952-959
- (4) Jorgen H. Larsen, Susanne H. Hartvig and Michael Parm **The determination of specific IgA-Antibodies to Yersinia Enterocolitica and their role in enteric infections and their complications.** *Acta path. microbiol. immunol. scan. Sect. B* 1985, 93:331-339
- (5) Riitta Lahesmaa-rantala, Jürgen Heesemann, Olli-Pekka Lehtonen, Kaisa Granfors and Auli Toivanen **Avidity of antibodies against released proteins of Yersinia spp: comparison of patients with or without reaktive arthritis.** *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989, 48:1003-1006
- (6) Tom H. Stahlberg, Jürgen Heesemann, Kaisa Granfors and Auli Toivanen **Immunoblot analysis of IgM, IgG, and IgA response to plasmid encoded released proteins of Yersinia enterocolitica in patiens with or without yersinia triggered reaktive arthritis.** *Annals of the Rheumatic Diseases* 1989, 48:577-581

We will be pleased to send you further literature on the diagnosis of Yersinia enterocolitica at your request.

14. Explanation of the symbols

	Contains sufficient for < n > tests (number of tests)	Inhalt ist ausreichend für < n > Ansätze (Anzahl der Ansätze)
	Consult instructions for use	Gebrauchsinformation beachten
<b>CONT</b>	Contains	Inhalt, enthält
<b>IVD</b>	in vitro diagnostic device	In vitro Test
<b>LOT</b>	Batch code	Chargen-Nummer
	Do not freeze	Nicht einfrieren
<b>REF</b>	Catalogue number	Bestell-Nummer
	Use by expiry date	verwendbar bis Mindesthaltbarkeitsdatum
	Temperature limitation Store between x°C and y°C	Lagerung bei x°C bis y°C

<b>recomWell Yersinia IgG</b>	Artikel-Nr./ Article No.:	<b>4604</b>
<b>recomWell Yersinia IgM</b>	Artikel-Nr./ Article No.:	<b>4605</b>
<b>recomWell Yersinia IgA</b>	Artikel-Nr./ Article No.:	<b>4606</b>
Gebrauchsinformation Version/ Instructions for use version: GIREYE009ADE.DOC gültig ab/ valid from: Juli/july 2005		
<b>MIKROGEN GmbH</b> Floriansbogen 2-4 D-82061 Neuried Germany www.mikrogen.de	Tel: +49 (0)89 54 80 1-0 Fax: +49 (0)89 54 80 1-100  mikrogen@mikrogen.de	
QM-SYSTEM zertifiziert durch: QM System certified according to:	