

**VIROTECH Brucella IgG/IgM ELISA  
(Brucella IgG/IgM ELISA)**

**Bestell-Nr.: EC101.00**

**Brucella IgA-Set**

**Bestell-Nr.: EC101.08**

**Farbcodierung: orange**

**NUR ZUR IN VITRO DIAGNOSTIK**

**Virotech Diagnostics GmbH  
Waldstrasse 23 A2  
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0  
Fax.: +49(0)6074-23698-900  
[www.goldstandarddiagnostics.com](http://www.goldstandarddiagnostics.com)**



# Inhalt

<b>1. Verwendungszweck</b>	<b>3</b>
<b>2. Diagnostische Bedeutung</b>	<b>3</b>
<b>3. Testprinzip</b>	<b>3</b>
<b>4. Packungsinhalt</b>	<b>3</b>
4.1 IgG/IgM Testkit	3
4.2 IgA Set	4
<b>5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien</b>	<b>4</b>
<b>6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise</b>	<b>4</b>
<b>7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)</b>	<b>5</b>
<b>8. Testdurchführung</b>	<b>5</b>
8.1 Untersuchungsmaterial	5
8.2 Vorbereitung der Reagenzien	5
8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung	5
8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren	6
<b>9. Testauswertung</b>	<b>6</b>
9.1 Testfunktionskontrolle	6
9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)	6
9.3 Auswertungsschema IgG, IgM und IgA	7
9.4 Grenzen des Tests	7
<b>10. Leistungsdaten</b>	<b>7</b>
10.1 Sensitivität und Spezifität	7
10.2 Durchseuchung (erwartete Werte)	7
10.3 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)	8
10.4 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)	8
<b>11. Literatur</b>	<b>8</b>
<b>Testablaufscha</b>	<b>9</b>

## 1. Verwendungszweck

---

Der Brucella ELISA dient dem qualitativen und semiquantitativen Nachweis von IgG-, IgM- und IgA-Antikörpern gegen *Brucella abortus*, *Brucella melitensis* und *Brucella suis* in Humanserum.

## 2. Diagnostische Bedeutung

---

Bei der Gattung *Brucella* handelt es sich um gramnegative, kokkoide, strikt aerobe und unbewegliche Stäbchen, die die Verursacher der Brucellose sind. Bei der humanen Brucellose handelt es sich um eine weltweit verbreitete Zoonose, die durch *Brucella melitensis* (Maltafieber), *Brucella abortus* (Bangsche Krankheit) und *Brucella suis* verursacht werden. *Brucella melitensis* tritt dabei vermehrt im Mittelmeerraum auf und wird durch Schafe und Ziegen übertragen; bei *Brucella abortus* sind es Rinder und bei *Brucella suis* Schweine. (1)

Die Infektion des Menschen erfolgt durch kleinste Hautläsionen oder die Schleimhaut. Dies kann über einen Kontakt mit dem erkrankten Tier oder dessen Ausscheidungsprodukten oder Totgeburten erfolgen. Eine andere Infektionsgefahr liegt in der Aufnahme von nicht ausreichend erhitzter Milch, Milchprodukten oder Fleischprodukten infizierter Tiere. Die Brucellose tritt auch als Berufskrankheit bei Berufen auf, die mit der Tierhaltung, der Herstellung von Lebensmitteln und mit Labordiagnostik zu tun haben. Eine direkte Übertragung von Mensch zu Mensch ist sehr selten. (1)

Die Erkrankung beginnt mit Abgeschlagenheit, Kopf- und Gliederschmerzen, Schlaflosigkeit, Angina, Bronchitis oder Gastritis. Dabei ist für *B. melitensis* und *B. suis* charakteristisch, dass das Fieber abends stark erhöht ist und Fieberperioden auftreten. Die Erkrankung kann spontan ausheilen oder in einen chronischen Verlauf übergehen. Dabei können Fieberphasen über Jahre hinweg auftreten. Die weitere Symptomatik richtet sich nach der Organmanifestation. Im Vordergrund stehen Leber und Milz, aber auch ZNS, Bewegungsapparat oder das Urogenitalsystem können betroffen sein. (1)

Differentialdiagnostisch müssen verschiedene Erkrankungen in Betracht gezogen werden: Typhus abdominalis, Paratyphus, Sepsis, Miliartuberkulose, Yersiniose, Malaria, Borreliose, Ornithose, Q-Fieber, Hepatitis, maligne Lymphome und andere immunpathogenetische Erkrankungen. Aufgrund des uncharakteristischen Krankheitsbildes der Brucellose findet die Diagnose überwiegend über die Anzucht des Erregers oder die Serologie statt. (1)

Die kulturelle Anzucht der Brucellen kann aus Blut, Knochenmarks-, Gelenk- oder Lymphknotenpunktat durchgeführt werden. Da die Anzucht drei bis sieben Tage dauert, und da die Isolierung des Erregers nicht immer gelingt, kommt der serologischen Untersuchung eine vorrangige Bedeutung zu. Sie kann mit der Agglutination, KBR, Coombstest oder ELISA durchgeführt werden. (1) Mit der KBR werden hauptsächlich IgG Antikörper nachgewiesen und mit dem Coombstest vor allem inkomplette Antikörper (vor allem IgA und IgG). (2) Patienten mit einer akuten Brucellose zeigen vor allem erhöhte Antikörpertiter für die Immunglobulinklassen IgG, IgM und IgA. Bei einer chronischen Brucellose finden sich vor allem Titer für IgG und IgA. (3) Mit dem ELISA können die einzelnen Antikörperklassen bestimmt werden, weshalb der ELISA mit getrennter Bestimmung der Immunglobulinklassen als Technik der Wahl gilt.

## 3. Testprinzip

---

Der im Humanserum gesuchte Antikörper bildet mit dem auf der Mikrotiterplatte fixierten Antigen einen Immunkomplex. Nicht gebundene Immunglobuline werden durch Waschprozesse entfernt. Mit diesem Komplex verbindet sich das Enzym-Konjugat. Nicht gebundene Immunglobuline werden wiederum durch Waschprozesse entfernt. Nach Zugabe der Substratlösung (TMB) entsteht durch Enzymaktivität (Peroxidase) ein blauer Farbstoff, der nach Zugabe der Stopplösung nach Gelb umschlägt.

## 4. Packungsinhalt

---

### 4.1 IgG/IgM Testkit

1. **1 Mikrotiterplatte**, bestehend aus 96 mit Antigen beschichteten, abbrechbaren Einzelkavitäten, lyophilisiert
2. **PBS-Verdünnungspuffer (blau, gebrauchsfertig) 2x50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
3. **PBS-Waschlösung (20x konzentriert) 50ml**, pH 7,2, mit Konservierungsmittel und Tween 20
4. **IgG negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgG cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig

6. **IgG positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgM negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
8. **IgM cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
9. **IgM positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
10. **IgG-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
11. **IgM-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
12. **Tetramethylbenzidin - Substratlösung (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
13. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

#### 4.2 IgA Set

1. **IgA negative Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
2. **IgA cut-off Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
3. **IgA positive Kontrolle, 1300µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
1. **IgA-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig

### 5. Lagerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien

Testkit bei 2-8°C aufbewahren. Die Haltbarkeit der einzelnen Komponenten ist auf dem jeweiligen Etikett vermerkt; Kit-Haltbarkeit siehe Qualitätskontrollzertifikat.

1. Nach Entnahme der benötigten Einzelkavitäten die restlichen Einzelkavitäten/Streifen in verschlossenem Beutel mit Trockenmittel bei 2-8°C lagern. Reagenzien sofort nach Gebrauch wieder bei 2-8°C lagern.
2. Das gebrauchsfertige Konjugat und die TMB Substratlösung sind lichtempfindlich und müssen im Dunkeln aufbewahrt werden. Kommt es durch Lichteinfall zu einer Farbentwicklung der Substratlösung, so ist diese zu verwerfen.
3. Nur die für den Testansatz benötigte Menge vom gebrauchsfertigen Konjugat bzw. TMB entnehmen. Zuviel entnommenes Konjugat bzw. TMB darf nicht zurückgeführt werden sondern ist zu verwerfen.

Material	Zustand	Lagerung	Haltbarkeit
Untersuchungsproben	verdünnt	+2 bis +8°C	max. 6h
	unverdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Kontrollen	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
MTP	nach Öffnen	+2 bis +8° (Lagerung im mitgelieferten Beutel mit Trockenmittelbeutel)	3Monate
RF Sorbo Tech	unverdünnt, nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	verdünnt	+2 bis +8°C	1Woche
Konjugat	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
TMB	nach Öffnen	+2 bis +8°C (lichtgeschützt)	3Monate
Stopplösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
Waschlösung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4Wochen

### 6. Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

1. Als Kontrollseren werden nur Seren verwendet, die getestet und als HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-B-surface-Antigen negativ befundet wurden. Trotzdem sollten alle Proben, verdünnte Proben, Kontrollen, Konjugate und die Mikrotiterstreifen als potentiell infektiöses Material betrachtet und entsprechend sorgfältig gehandhabt werden. Es gelten die jeweiligen Richtlinien für Laborarbeiten.
2. Die Komponenten, die Konservierungsmittel enthalten, Citrat-Stopp-Lösung und TMB wirken reizend auf die Haut, Augen und Schleimhäute. Bei Berührungen die betroffenen Körperstellen sofort unter fließendem Wasser abwaschen und eventuell den Arzt aufsuchen.
3. Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien.

## 7. Zusätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)

---

1. Aqua dest./demin.
2. Mehrkanalpipette 50µl, 100µl
3. Mikropipetten: 10µl, 100µl, 1000µl
4. Reagenzgläser
5. Zellstofftücher
6. Abdeckung für ELISA-Platten
7. Abfallbehälter für infektiöses Material
8. ELISA Handwascher bzw. automatischer Wascher für Mikrotiterplatten
9. Spektralphotometer für Mikrotiterplatten mit 450/620nm Filter (Referenzwellenlänge 620-690nm)
10. Brutschrank

## 8. Testdurchführung

---

Die exakte Einhaltung der VIROTECH Diagnostics Arbeitsvorschrift ist Voraussetzung für das Erzielen korrekter Ergebnisse.

### 8.1 Untersuchungsmaterial

Als Untersuchungsmaterial kann Serum und Plasma (hierbei ist die Art der Antikoagulanzen nicht von Relevanz) eingesetzt werden, auch wenn in dieser Gebrauchsanweisung nur Serum erwähnt ist.

Patienten-Verdünnungen immer frisch ansetzen.

Für eine längere Aufbewahrung müssen die Seren eingefroren werden. Mehrmaliges Auftauen sollte vermieden werden.

1. Nur frische, nicht inaktivierte Seren benutzen.
2. Hyperlipämische, hämolytische, mikrobiell kontaminierte Proben und trübe Seren nicht verwenden (falsch positive/negative Ergebnisse).

### 8.2 Vorbereitung der Reagenzien

Die VIROTECH Diagnostics System Diagnostik bietet ein hohes Maß an Flexibilität durch die Möglichkeit, Verdünnungs- und Waschpuffer, TMB, Citrat-Stopplösung sowie Konjugat parameter- und chargenübergreifend einzusetzen. Die gebrauchsfertigen Kontrollen (positive Kontrolle, cut-off Kontrolle, negative Kontrolle) sind parameterspezifisch und ausschließlich mit der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Plattencharge zu verwenden.

1. Brutschrank auf 37°C einstellen und sich vor Inkubationsbeginn vom Erreichen der Temperatur überzeugen.
2. Alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen; erst dann die Verpackung mit den Teststreifen öffnen.
3. Alle Flüssigkomponenten vor Gebrauch gut schütteln.
4. Waschlösungs-Konzentrat auf 1Liter mit Aqua dest./demin. auffüllen (bei eventueller Kristallbildung des Konzentrates dieses bitte vor dem Verdünnen auf Raumtemperatur bringen und vor Gebrauch gut schütteln).
5. Hohe IgG-Titer oder Rheumafaktoren können den spezifischen Nachweis von IgM-Antikörpern stören und zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen führen. **Für eine korrekte IgM-Bestimmung ist es daher erforderlich, die Seren mit RF-SorboTech** (VIROTECH-Adsorptionsmittel) **vorzubehandeln**. Bei IgM-Kontrollen entfällt die Voradsorption.

### 8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung

1. Pro Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers (Leerwert), der negativen-, cut-off und der positiven IgG-, IgM- und IgA-Kontrolle, sowie der verdünnten Patientenseren pipettieren. Wir empfehlen jeweils einen Doppelansatz (Leerwert, Kontrollen und Patientenseren); bei der cut-off Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend notwendig. Arbeitsverdünnung der Patientenseren: 1+100; z.B. 10µl Serum + 1ml Verdünnungspuffer.
2. Nach Pipettierung erfolgt die Inkubation für 30 Min. bei 37 °C (mit Abdeckung).
3. Beenden der Inkubationsperiode durch 4 maliges Waschen mit je 350-400µl Waschlösung pro Kavität. Waschlösung nicht in den Kavitäten stehen lassen, sondern letzte Flüssigkeitsreste durch Ausklopfen auf einer Zellstoffunterlage entfernen.
4. 100µl des gebrauchsfertigen Konjugats in alle Kavitäten pipettieren.
5. Inkubation der Konjugate: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung).

6. Beenden der Konjugatinkubation durch 4 maliges Waschen (siehe Pkt. 3).
7. 100µl der gebrauchsfertigen TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
8. Inkubation der Substratlösung: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung, dunkel stellen).
9. Abstoppen der Substratreaktion: in alle Kavitäten je 50µl Citrat-Stopplösung pipettieren. Die Platte vorsichtig und sorgfältig schütteln bis sich die Flüssigkeiten vollständig durchmischt haben und eine einheitliche gelbe Farbe sichtbar wird.
10. Extinktionen bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm) messen. Photometer so einstellen, dass der gemessene Leerwert von allen anderen Extinktionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

Testablaufschemata siehe letzte Seite

#### 8.4 Einsatz von ELISA-Prozessoren

Alle VIROTECH Diagnostics ELISAs können mit Hilfe von ELISA-Prozessoren abgearbeitet werden. Der Anwender ist verpflichtet

eine regelmäßige Gerätevalidierung durchzuführen.

VIROTECH Diagnostics empfiehlt die folgende Vorgehensweise:

1. Bei Gerätestellung bzw. größeren Reparaturen Ihres ELISA Prozessors empfiehlt VIROTECH Diagnostics, die Validierung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen.
2. Es wird empfohlen, anschließend den ELISA Prozessor mit dem Validierungskit (EC250.00) zu überprüfen. Diese regelmäßige Überprüfung mit dem Validierungskit sollte mindestens einmal pro Quartal durchgeführt werden.
3. Bei jedem Testlauf müssen die Freigabekriterien des Qualitätskontrollzertifikates zum Produkt erfüllt werden.

Diese Vorgehensweise gewährleistet die einwandfreie Funktion Ihres ELISA Prozessors und dient darüber hinaus der Qualitätssicherung des Labors.

### 9. Testauswertung

---

Die gebrauchsfertigen Kontrollen dienen einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer IgG-, IgM- und IgA-Antikörper, deren Konzentration in VIROTECH Einheiten (=VE) angegeben wird. Durch die Testdurchführung bedingte Schwankungen werden über die Berechnungsmethode ausgeglichen und es wird damit eine hohe Reproduzierbarkeit erreicht. Für die Berechnung der VE werden die Mittelwerte der OD-Werte eingesetzt.

#### 9.1 Testfunktionskontrolle

a) OD-Werte

Der OD-Wert des Leerwertes sollte <0,15 sein.

Die OD-Werte der negativen Kontrollen sollten unterhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte, die OD-Werte der positiven Kontrollen sowie der cut-off Kontrollen sollten oberhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte liegen.

b) VIROTECH Einheiten (VE)

Die VIROTECH Einheiten (VE) der cut-off Kontrollen sind mit 10 VE definiert. Die berechneten VE der positiven Kontrollen sollten innerhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen Bereiche liegen.

Werden die Anforderungen (OD-Werte, VE) nicht erfüllt, so ist der Test zu wiederholen.

#### 9.2 Berechnung der VIROTECH Einheiten (VE)

Die Extinktion des Leerwertes (450/620nm) muß von allen Extinktionen abgezogen werden.

$$VE \text{ (positive Kontrolle)} = \frac{OD \text{ (positive Kontrolle)}}{OD \text{ (cut-off Kontrolle)}} \times 10$$

$$VE \text{ (Patientenserum)} = \frac{OD \text{ (Patientenserum)}}{OD \text{ (cut-off Kontrolle)}} \times 10$$

### 9.3 Auswertungsschema IgG, IgM und IgA

Ergebnis (VE)	Beurteilung
< 9,0	negativ
9,0 – 11,0	grenzwertig
> 11,0	Positiv

- Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet.
- Befinden sich die gemessenen VE innerhalb des angegebenen grenzwertigen Bereiches, liegt keine signifikant hohe Antikörperkonzentration vor; die Proben werden als grenzwertig betrachtet. Für den sicheren Nachweis einer Infektion ist es erforderlich, den Antikörpergehalt zweier Serumproben zu bestimmen. Eine Serumprobe sollte direkt nach Beginn der Infektion, eine zweite Probe 5-10 Tage später (rekonvaleszentes Serum) getestet werden. Die Antikörperkonzentration beider Proben muß parallel, d.h. in einem Testansatz bestimmt werden. Eine korrekte Diagnose aufgrund der Bewertung einer einzelnen Serumprobe ist nicht möglich.
- Liegen die gemessenen Werte unterhalb des definierten grenzwertigen Bereiches, sind keine messbaren antigenspezifischen Antikörper in der Probe vorhanden. Die Proben werden als negativ betrachtet.

### 9.4 Grenzen des Tests

- Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
- Zu beachten sind potentielle Kreuzreaktivitäten bei Tularämie-, Yersinia enterocolitica-, Salmonella- und Cholerainfektionen (gilt auch für Cholera Schutzimpfungen). (1)

## 10. Leistungsdaten

### 10.1 Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden 311 Seren im Virotech ELISA und im ELISA eines Mitbewerbers getestet.

Serenkollektiv (n=311)

Mitbewerber	VIROTECH Brucella ELISA								
	IgG			IgM			IgA		
	Negativ	Grenzwertig	Positiv	Negativ	Grenzwertig	Positiv	Negativ	Grenzwertig	Positiv
Negativ	284	0	0	277	1	2	287	0	0
Grenzwertig	3	0	0	7	0	0	1	0	0
Positiv	2	1	21	2	1	21	1	0	22

Grenzwertige Ergebnisse sind in die Berechnungen der Sensitivität und Spezifität nicht mit einbezogen worden. Für den VIROTECH Brucella ELISA ergeben sich folgende Werte:

	IgG	IgM	IgA
Sensitivität	91%	91%	96%
Spezifität	100%	99%	100%

### 10.2 Durchseuchung (erwartete Werte)

Die folgende Tabelle zeigt die Austestung von deutschen Blutspendern im IgG, IgM und IgA (n=80):

	IgG	IgA	IgM
Negativ	80	80	80
Grenzwertig	0	0	0
Positiv	0	0	0

### 10.3 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit einem Serum getestet. Der so ermittelte Variationskoeffizient beträgt < 9%.

### 10.4 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 10 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Labors und von verschiedenen Testpersonen 3 Seren getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten liegen unter 15%.

## 11. Literatur

---

1. Bundesinstitut für gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin. (2001). Brucellosen: Erkennung und Behandlung. Merkblatt für Ärzte
2. Dickgießer, N. (1992) Gattung Brucella. S. 158-162. In: Burkhardt, F. Mikrobiologische Diagnostik. Thieme, Stuttgart
3. Araj, GF. (1999) Human Brucellosis: A classical infectious disease with persistent diagnostic challenges. Clin. Lab. Science 12(4), 207-211

## Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

▼ **Waschlösung:** Konzentrat auf 1 Liter mit aqua dest./demin. auffüllen

▼ **IgG-/IgA-Proben – Verdünnung**  
**1:101**

z.B.:  
10 µl Serum/Plasma + 1000 µl Verdünnungspuffer  
(Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)

▼ **IgM-Proben - Verdünnung**  
**1:101**

**Rheumafaktoradsorption mit RF-SorboTech**

z.B.:  
5 µl Serum/Plasma + 450 µl Verdünnungspuffer +  
1 Tropfen RF-SorboTech bei RT 15 min inkubieren

## Testdurchführung

Probeninkubation

**30 Minuten bei 37°C**

**100 µl Patientenproben**

Leerwert (Verdünnungspuffer) und Kontrollen



4 x Waschen

**400 µl Waschlösung**

gut ausklopfen



Konjugatinkubation

**30 Minuten bei 37°C**

**100 µl Konjugat**

IgG, IgM, IgA



4 x Waschen

**400 µl Waschlösung**

gut ausklopfen



Substratinkubation

**30 Minuten bei 37°C**

**100 µl Substrat**



Abstoppen

**50 µl Stopplösung**

vorsichtig schütteln



Extinktion messen

**Photometer bei 450/620nm**  
(Referenzwellenlänge 620-690nm)