

**VIROTECH Masern/Measles IgM ELISA
(Masern/Measles IgM ELISA)**

Bestell-Nr.: EC105M00

Farbcodierung: grau/transparent

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**



Inhalt

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

1. Verwendungszweck

Der VIROTECH Masern/Measles IgM ELISA dient dem Nachweis einer akuten Infektion oder einer kürzlich durchgemachten Infektion mit dem Masern-Virus bzw. der Detektion von Impfantikörpern.

2. Diagnostische Bedeutung

Die Erkrankung wird durch ein ausschließlich humanpathogenes RNA-Virus hervorgerufen; es gehört zum Genus Morbillivirus in der Familie der Paramyxoviren.

Masern werden im direkten Kontakt durch das Einatmen infektiöser Expirationströpfchen oder durch infektiöse Sekrete aus Nase oder Rachen übertragen. Das Masernvirus führt bereits bei kurzer Exposition zu einer Infektion (Kontagionsindex nahe 100%) und löst bei über 95% der ungeschützten Infizierten klinische Erscheinungen aus. Die Inkubationszeit beträgt 8-10 Tage bis zum Beginn des katarrhalischen Stadiums, 14 Tage bis zum Ausbruch des Exanthems (1).

Die Durchseuchung mit IgG Antikörpern in der deutschen Bevölkerung liegt je nach Alter zwischen 77% (2-4 Jahre) und 99,5% (≥ 40 Jahre) (2).

Masern beginnen mit Fieber, Konjunktivitis, Schnupfen, Husten und einem Exanthem am Gaumen. Pathognomonisch sind die oft nachweisbaren Koplik-Flecken. Das charakteristische makulopapulöse Masernexanthem entsteht am 3.–7. Tag nach Auftreten der initialen Symptome. Am 5.–7. Krankheitstag kommt es zum Temperaturabfall. Eine Masernerkrankung hinterlässt lebenslange Immunität. Die subakute sklerosierende Panenzephalitis (SSPE) stellt eine sehr seltene Spätkomplikation (1–5 Fälle pro 1 Mio. Erkr.) dar, die sich nach durchschnittlich 6–8 Jahren manifestiert. Beginnend mit psychischen und intellektuellen Veränderungen entwickelt sich ein progredienter Verlauf mit neurologischen Störungen und Ausfällen bis zum Verlust zerebraler Funktionen. Die Prognose ist stets infaust.

Bei Immunsupprimierten oder bei zellulären Immundefekten verläuft die Maserninfektion zwar nach außen hin schwach – das Masernexanthem tritt nicht oder nur atypisch in Erscheinung – dagegen können sich als schwere Organkomplikationen eine progrediente Riesenzellpneumonie oder die Masern-Einschlusskörper-Enzephalitis entwickeln, die mit einer Letalität von etwa 30% einhergehen.

Der Masernimpfstoff ist ein Lebendvirusimpfstoff aus abgeschwächten Masernviren. Als Impfstoff der Wahl gilt die MMR-Vakzine (Monovakzine aus Masern- sowie Mumps- und Rötelnvirusimpfstoff).

Die Erstimpfung sollte im Alter von 11–14 Monaten, d. h. nach dem Verschwinden der maternalen Antikörper, erfolgen. Die in Deutschland zugelassenen Impfstoffe bewirken bei über 90% der einmal Geimpften eine Serokonversion. Bis zu 5% der Impflinge zeigen die sogenannten ›Impfmasern‹ mit mäßigem Fieber, flüchtigem Exanthem und respiratorischen Symptomen, meist in der 2. Woche nach der Impfung. Die durch die Impfung bewirkte Immunantwort ist nach 4–6 Wochen nachweisbar.

Die Masern weisen ein relativ typisches klinisches Bild auf, so dass in der Vergangenheit Laboruntersuchungen zur Bestätigung der klinischen Diagnose zu den Ausnahmen zählten. Mit Einführung der Schutzimpfungen sind die Masern-Erkrankungen bei uns sehr viel seltener geworden, so dass z.T. diagnostische Unsicherheit besteht und die Labordiagnostik eine zunehmende Bedeutung erlangt hat.

Für die Labordiagnostik steht ein breites Spektrum von Methoden zur Verfügung, die den Nachweis spezifischer Antikörper und den Virusnachweis umfassen. Der Nachweis der viruspezifischen IgM-Antikörper als Marker eines aktuellen Krankheitsgeschehens stellt derzeit die schnellste und sicherste Methode dar, die in der Regel mit dem Ausbruch des Exanthems positiv ausfällt, jedoch bei bis zu 30% der an Masern Erkrankten am 1.–3. Exanthemtag noch negativ sein kann. IgM-Antikörper können bis zu 6 Wochen und länger persistieren, so dass auch retrospektiv die Diagnose einer exanthematischen Erkrankung möglich ist.

Bei Geimpften mit Reinfektionen, die keine deutliche IgM-Antwort zeigen, bedeutet ein negativer Befund keinen Ausschluss der Diagnose ›Masern‹. In diesen Fällen sollte möglichst ein weiteres Serum im Abstand von 7–10 Tagen untersucht werden. Im Serumpaar kann dann ggf. mittels des ELISA (IgG) oder der KBR ein signifikanter Antikörperanstieg nachgewiesen und im IgM ELISA ein positives Ergebnis erzielt werden.

Die Virusanzucht erfordert einen erheblichen Aufwand und ist nur in Ausnahmefällen gerechtfertigt. Der positive Nachweis der Masernvirus-RNA mittels der RT-PCR in Patientenproben, die kurz nach dem Exanthembeginn entnommenen wurden, bestätigt wie der IgM-Nachweis die akute Erkrankung. Ein negativer Virusgenom-Nachweis bedeutet jedoch keinen Ausschluss der Erkrankung (1).

Bei der virologisch-serologischen Differentialdiagnose masernverdächtiger Krankheitsbilder ist vor allem an Röteln, Ringelröteln, Adeno- und Enteroviren sowie an HHV-6 zu denken (3).

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 (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. **IgM negative Kontrolle, 2000µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
5. **IgM cut-off Kontrolle, 2000µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
6. **IgM positive Kontrolle, 2000µl**, Humanserum mit Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, gebrauchsfertig
7. **IgM-Konjugat (anti-human), 11ml**, (Schaf oder Ziege)-Meerrettich-Peroxidase-Konjugat mit FCS und Konservierungsmittel in Tris-Puffer, gebrauchsfertig
8. **Tetramethylbenzidin-Substratlösung (3,3',5,5'TMB), 11ml**, gebrauchsfertig
9. **Citrat-Stopplösung, 6ml**, enthält ein Säuregemisch

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-Stopplösung 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 IgM-Kontrolle, sowie der verdünnten Patientenserum pipettieren. Wir empfehlen jeweils einen Doppelansatz (Leerwert, Kontrollen und Patientenserum); bei der cut-off Kontrolle ist ein Doppelansatz zwingend notwendig. Arbeitsverdünnung der Patientenserum: 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 IgM-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 Kontrolle sollten unterhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte, die OD-Werte der positiven Kontrolle sowie der cut-off Kontrolle sollten oberhalb der im Qualitätskontrollzertifikat angegebenen OD-Werte liegen.

b) VIROTECH Einheiten (VE)

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

$$\begin{aligned} \text{VE (positive Kontrolle)} &= \frac{\text{OD (positive Kontrolle)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \\ \text{VE (Patientenserum)} &= \frac{\text{OD (Patientenserum)}}{\text{OD (cut-off Kontrolle)}} \times 10 \end{aligned}$$

9.3 Auswertungsschema IgM

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

1. Liegen die gemessenen VE der Probe oberhalb des grenzwertigen Bereiches, so werden die Proben als positiv betrachtet (Impfmanagement beachten!).
2. 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.
3. 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

1. Die Interpretation serologischer Ergebnisse sollte immer das klinische Bild, epidemiologische Daten und eventuell weitere zur Verfügung stehende Laborbefunde mit einbeziehen.
2. Anti-Doppelstrang DNS (α -dsDNS) Seren (ANA, systemischer Lupus erithematodes) können Kreuzreaktivität zum VIROTECH Masern/Measles IgM ELISA zeigen.
3. Es kann nicht vollständig ausgeschlossen werden, dass IgM Antikörper, die ursächlich gegen andere Viren gerichtet sind, auch mit einem Epitop des Masern Antigens kreuzreagieren. Hierdurch, so wie durch polyklonale Stimulierung, kann der Masern IgM Test in Einzelfällen ein falsch positives Ergebnis zeigen. (5)
4. Die IgM Diagnostik kann in seltenen Fällen bei Schwangerenseren falsch positiv ausfallen.

10. Leistungsdaten

10.1 Diagnostische Sensitivität

Getestet wurde ein Verlaufsimpfserum, das vor der Impfung ein eindeutig negatives Ergebnis zeigt. Die Testungen der 14 Serumabnahmen (verteilt über einen Zeitraum bis zu 55 Tagen nach Impfung) zeigen bis zur 5. Abnahme (20.Tag nach Impfung) einen kontinuierlichen Anstieg der IgM Antikörper, die Testungen der darauffolgenden Abnahmen zeigen einen kontinuierlichen Abfall der IgM Antikörper.

10.2 Sensitivität und Spezifität

Die Testung des Serenkollektivs (37 Routineseren, 120 Blutbankseren, 65 Schwangerenseren, 12 Kinderseren, 29 Ringversuchsseren, 15 Impfverlaufsseren) ergab in Bezug auf Vorbefunde eine Sensitivität und Spezifität von jeweils >99,8%.

Serenkollektiv (n=278)		VIROTECH Masern/Measles IgM ELISA		
		Negativ	Grenzwertig	Positiv
Befund	Negativ	228	2	-
	Grenzwertig	5	3	-
	Positiv	-	2	38

Die grenzwertigen Ergebnisse wurden bei der Berechnung der Sensitivität und Spezifität nicht berücksichtigt.

10.3 Durchseuchung (erwartete Werte)

Die folgende Tabelle zeigt die Austestung von 78 Blutspenderseren.

	IgM (n=78)
Negativ	77
Grenzwertig	1
Positiv	0

10.4 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit zwei Seren schachbrettartig getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten liegen unter 9%.

10.5 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 10 unabhängigen Testansätzen wurden an 3 verschiedenen Testtagen 3 Seren getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten betragen < 15%.

11. Literatur

1. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte – Masern. im Februar 2002 aktualisierte Fassung, Erstveröffentlichung 5.11.1999. http://www.rki.de/INFEKT/INFEKT.HTM?/INFEKT/INF_A-Z/RATMBL/RATMBL2.HTM&1
2. Gerike, Tischer, Santibanez, Einschätzung der Masernsituation in Deutschland, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2000 – 43:11 – 21, Springer Verlag 2000, S. 17 Tabelle 2. <http://www.rki.de/GESUND/IMPFEN/BGBL0100/00430011.PDF>
3. Gerike, Tischer, Santibanez, Einschätzung der Masernsituation in Deutschland, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 2000 – 43:11 – 21, Springer Verlag 2000, S. 14. <http://www.rki.de/GESUND/IMPFEN/BGBL0100/00430011.PDF>
4. Evans, A.S., Kaslow, R.A., Viral Infections of Human, fourth edition, Plenum Medicals Book Company, 1997, 508-509.
5. Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen, S2k-Leitlinie, AWMF Registernummer 0093/001

Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

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

▼ **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 IgM
↓		
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)