VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA (Mumps IgG/IgM ELISA)

Bestell-Nr.: EC106.00

Mumps IgG Liquor/CSF Standards

Bestell-Nr.: EC106L60

Farbcodierung: hellgrün/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.	Ve	erwendungszweck	3
2.	Di	agnostische Bedeutung	3
3.	Te	estprinzip	3
4.	Pa	ackungsinhalt (IgG und IgM Testkit)	4
5.	La	agerung und Haltbarkeit des Testkits und der gebrauchsfertigen Reagenzien	4
6.	Vo	orsichtsmaßnahmen und Warnhinweise	4
7.	Zι	usätzlich benötigtes Material (wird nicht mitgeliefert)	5
8.	Te	estdurchführung	5
	8.1 8.2 8.3 8.4	Untersuchungsmaterial Vorbereitung der Reagenzien VIROTECH ELISA Testdurchführung Einsatz von ELISA-Prozessoren	5 5
9.	Te	estauswertung	6
	9.1 9.2 9.3 9.4	Testfunktionskontrolle	6 6
10	. Le	eistungsdaten	7
	10.1 10.2 10.3 10.4	Durchseuchung (erwartete Werte)	8 8
11	. Lit	teratur	8
12	Τσ	establaufschema	a

Verwendungszweck

Der VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA dient dem semiquantitativen und qualitativen Nachweis von IgG- und IgM-Antikörpern gegen Mumps Viren in Humanserum. Dabei wird der IgM Antikörper Nachweis für die Diagnostik einer akuten Infektion und der IgG Antikörper Nachweis zur Bestimmung des Serostatus eingesetzt.

2. Diagnostische Bedeutung

Das Mumps Virus gehört der Familie Paramyxoviridae an. Zu den Paramyxoviridae gehören auch Masern, Parainfluenza und RSV. Der Mensch ist der einzige natürliche Wirt des Mumps Virus, welches weltweit verbreitet ist. (1)

In den Industrieländern der nördlichen Hemisphäre liegt die höchste Inzidenzrate bei 5 bis 9 jährigen Kindern vor. Dabei liegt die Durchseuchung ab dem 15. Lebensjahr bei 80-90%. Da Mumps Viren nur eine Kontagiosität von 40% im Vergleich zu Masern und Varicellen besitzen, kommen Erkrankungen bei Erwachsenen etwa dreimal häufiger vor als bei Masern. (1) Etwa 30-50% der Infektionen verlaufen inapparent und nach einer durchgemachten Infektion wird in der Regel eine lebenslange Immunität erworben. (2,4)

Das Mumps Virus wird über Speicheltröpfchen oder Nasensekret von Mensch zu Mensch übertragen. (1) Die Inkubationszeit beträgt 18-21 Tage, nach der als klassisches Leitsymptom die ein- oder beidseitige fieberhafte Parotitis mit einer deutlichen Schwellung auftritt. (3)

Die meisten Mumps Virus Infektionen (Synonym Ziegenpeter oder Parotitis epidemica) verlaufen als generalisierte, sich selbst begrenzende Infektionen. Es können aber auch Komplikationen, besonders im zunehmenden Lebensalter, auftreten. Bei etwa 20% der Kranken im postpubertären Alter tritt eine meist einseitige Orchitis auf. Tritt sie doppelseitig auf, so besteht die Gefahr einer Hodenatrophie mit anschließender Sterilität. Bei 10% der Fälle im ersten Lebensjahrzent kann als Komplikation eine meist gutartige Meningitis mit der seltenen Spätfolge Taubheit auftreten. In den ersten drei Monaten besteht für Schwangere ein Abortrisiko; Embryopathien sind jedoch nicht bekannt. Weitere mögliche Komplikationen wie Epidydimitis, Oophoritis, Meningoenzephalitis, Mastitis oder Pankreatitis sind zu beachten. (1)

Die Erkrankung beginnt stets mit Fieber und bei den meisten Fällen mit einer einseitigen Parotisschwellung. Dies ist durch die Abhebung des Ohrläppchens leicht zu erkennen. In 2/3 der Fälle wird die andere Seite später auch befallen. Zuweilen sind ohne erkennbaren Parotisbefall nur die Submaxillaris und Sublingualis betroffen. (1)

Die Schutzimpfung gegen Mumps wird allgemein empfohlen und meist mit einem Lebendimpfstoff (MMR) durchgeführt. Mit diesem Impfstoff liegt die Konversionsrate bei 95%. Dabei kommt die Impfung für Kinder und exponierte Erwachsene in betracht. (1)

Die Immunitätslücke bei Mumps in der Altersgruppe der 15- bis 19jährigen liegt nach Buxbaums Angaben noch über 20 Prozent. Erst bei den über 40iährigen liege der Anteil der Serumproben mit schützenden Antikörpern über 90 Prozent. (5)

Die Diagnose findet über das Leitsymptom Parotitis statt. Eine Virusisolierung kann aus Speichelproben vorgenommen werden. (1) Für die Labordiagnose sind vor allem serologische Testsysteme geeignet. Hier finden ELISA, KBR oder HHT Verwendung. Auch der Virus Direktnachweis durch PCR kann durchgeführt werden. Beachtet werden müssen auch differentialdiagnostische Fragestellungen von Parotitiden anderer Genese wie Coxsackie Viren, EBV, Parainfluenza, Influenza A oder Adenoviren. Neben Pilzinfektionen sollten auch bakterielle Erreger wie Staphylokokken oder atypische Mykobakterien in die Differentialdiagnose einbezogen werden. (1,4)

Für den routinemäßigen Einsatz in der Serologie eignen sich besonders ELISA Testsysteme zur Differenzierung in verschiedene Immunglobulinklassen. Eine akute Mumps Virus Infektion kann schon in den ersten Krankheitstagen durch den Nachweis von spezifischen IgM Antikörpern bestätigt werden. (3) Die IgM spezifischen Antikörper sind in der Regel einen Monat nachweisbar (3). Zwei Wochen nach Krankheitsbeginn sind auch IgG Antikörper nachweisbar (3), die über viele Jahre persistieren (4).

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.

Seite 3 von 9 **RFV 17** Freigabedatum 26.04.2022 14:28

Packungsinhalt (IgG und IgM Testkit)

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

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.

- 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.
- 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
Untersuchungsproben	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
RF Solbo Tech	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
Wasahläsung	nach Öffnen	+2 bis +8°C	3Monate
Waschlösung	endverdünnt (gebrauchsfertig)	+2 bis +25°C	4Wochen

Vorsichtsmaßnahmen und Warnhinweise

- Als Kontrollseren werden nur Seren verwendet, die getestet und als HIV1-AK, HIV2-AK, HCV-AK und Hepatitis-Bsurface-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.
- 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.
- Die Entsorgung der verwendeten Materialien erfolgt nach länderspezifischen Richtlinien.

Seite 4 von 9 Freigabedatum 26.04.2022 14:28

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 Antikoagulanzien 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 k\u00f6nnen den spezifischen Nachweis von IgM-Antik\u00f6rpern st\u00f6ren und zu falsch positiven bzw. falsch negativen Ergebnissen f\u00fchren. F\u00fcr eine korrekte IgM-Bestimmung ist es daher erforderlich, die Seren mit RF-SorboTech (VIROTECH-Adsorptionsmittel) vorzubehandeln. Bei IgM-Kontrollen entf\u00e4llt die Vorabsorption.

8.3 VIROTECH ELISA Testdurchführung

- Pro Testansatz 100µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers (Leerwert), der negativen, cut-off und der positiven IgG- und IgM-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.
- Nach Pipettierung erfolgt die Inkubation f
 ür 30 Min. bei 37 °C (mit Abdeckung).
- Beenden der Inkubationsperiode durch 4 maliges Waschen mit je 350-400
 µl 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).

Seite 5 von 9

- 7. 100µl der gebrauchsfertigen TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
- Inkubation der Substratlösung: 30 Min. bei 37°C (mit Abdeckung, dunkel stellen). 8.
- 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 Extink-tionen abgezogen wird. Die photometrische Messung sollte innerhalb einer Stunde nach Zugabe der Stopplösung durchgeführt werden.

Testablaufschema 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:

- Bei Gerätestellung bzw. größeren Reparaturen Ihres ELISA Prozessors empfiehlt VIROTECH Diagnostics, die Validierung des Gerätes gemäß den Vorgaben des Geräteherstellers vorzunehmen.
- 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.
- 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.

Testauswertung

Die gebrauchsfertigen Kontrollen dienen einer semiquantitativen Bestimmung spezifischer IgG- und 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 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 (positive Kontrolle) =-	OD (positive Kontrolle) x 10
	OD (cut-off Kontrolle)
VE (Patientenserum) =-	OD (Patientenserum) x 10
VL (Fatientenserum) ==	OD (cut-off Kontrolle)

9.3 Auswertungsschema IgG und IgM

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.
- 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.
- 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.
- Anti-Doppelstrang DNS (α-dsDNS) Seren (ANA, systemischer Lupus erithematodes) zeigen Kreuzreaktivität zum VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA.

10. Leistungsdaten

10.1 Sensitivität und Spezifität

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität Mumps IgG wurden 88 Seren in einer internen Studie getestet. Als Vergleichstest diente ein ELISA eines anderen Anbieters.

Referenz ELISA	VIROT	VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA		
	negativ	grenzwertig	positiv	
negativ	28	0	2	
grenzwertig	8	4	5	
positiv	0	7	34	

Für den VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA ergeben sich im IgG folgende Werte:

Sensitivität: >99 % Spezifität 93 %

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität Mumps IgM wurden 101 Seren in einer internen Studie getestet. Als Vergleichstest diente ein ELISA eines anderen Anbieters.

Referenz ELISA	VIROT	VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA		
	negativ	grenzwertig	positiv	
negativ	90	1	0	
grenzwertig	0	1	0	
positiv	0	0	9	

Für den VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA ergeben sich im IgM folgende Werte:

Sensitivität: >99 % Spezifität >99 %

10.2 Durchseuchung (erwartete Werte)

Zur Ermittlung der Durchseuchung wurden 78 Blutbankseren im IgG und 79 Blutbankseren im IgM getestet.

	IgG (n=78)		IgM (n=79)	
	Anz.	(%)	Anz.	(%)
negativ	25	32	79	100
grenzwertig	7	9	0	0
positiv	46	59	0	0

10.3 Intra-Assay-Variationskoeffizient (Wiederholbarkeit)

In einem Intra-Assay wurden Streifen verschiedener Platten einer Charge mit zwei Seren schachbrettartig getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten betragen für IgG und IgM < 9%.

10.4 Inter-Assay-Variationskoeffizient (Reproduzierbarkeit)

In 11 unabhängigen Testansätzen wurden in verschiedenen Laboren und von verschiedenen Testpersonen 4 Seren getestet. Die so ermittelten Variationskoeffizienten betragen für IgG und IgM < 15%.

11. Literatur

- H. Hahn et al.; Medizinische Mikrobiologie; 3. Auflage 2001, S. 554-556
- T. Porstmann; Diagnostische Bibliothek Nr. 19, 1994
- F. Burkhardt et al.; Mikrobiologische Diagnostik; 1992, S. 362-363
- H. Reploh et al.; Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie; 7. Auflage 1994, S. 838
- http://www.aerzte-zeitung.de/docs/2002/01/22/012a1301.asp
- awmf Leitlinie Registernummer 0093/001: "Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen" S2k-Leitlinie

Seite 8 von 9 Freigabedatum 26.04.2022 14:28

Vorbereitung der Patientenproben und Waschlösung

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

▼ IgG-Proben – Verdünnung

z.B.:

10 μl Serum/Plasma + 1000 μl Verdünnungspuffer (Serumverdünnungspuffer ist gebrauchsfertig)

IgM-Proben - Verdünnung

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 4 x Waschen 400 µl Waschlösung gut ausklopfen Substratinkubation 30 Minuten bei 37°C 100 µl Substrat 50 µl Stopplösung Abstoppen vorsichtig schütteln Extinktion messen Photometer bei 450/620nm (Referenzwellenlänge 620-690nm)