

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

Rendelési szám: EC106.00

**Mumps IgG Liquor/CSF Standards**

Rendelési szám: EC106L60

Színkód: világoszöld/átlátszó

**CSAK *IN VITRO* DIAGNOSZTIKAI CÉLOKRA**

**VIROTECH Diagnostics GmbH  
Löwenplatz 5  
D- 65428 Rüsselsheim**

**Tel.: +49-6142-6909-0**

**Fax: +49-6142-966613**

**<http://www.virotechdiagnostics.com>**



Freigabedatum: 16.12.2019 07:51

REV 12 / VIROTECH Mumps IgG/IgM ELISA HU

# Tartalom

<b>1. Alkalmazás célja</b> .....	<b>3</b>
<b>2. A teszt működési elve</b> .....	<b>3</b>
<b>3. A készlet tartalma IgG / IgM teszt készlet</b> .....	<b>3</b>
3.1 IgG / IgM teszt készlet.....	3
<b>4. A teszt készlet és a felhasználásra kész reagensek tárolása és eltarthatósága</b> .....	<b>3</b>
<b>5. Óvintézkedések és biztonsági elírások</b> .....	<b>4</b>
<b>6. További szükséges anyagok (a csomag nem tartalmazza)</b> .....	<b>4</b>
<b>7. A vizsgálat elvégzése</b> .....	<b>4</b>
7.1 Vizsgálati anyag .....	4
7.2 A reagensek előkészítése .....	4
7.3 A VIROTECH ELISA vizsgálat elvégzése .....	5
7.4 ELISA-processzor alkalmazása .....	5
<b>8. A vizsgálati eredmények kiértékelése</b> .....	<b>5</b>
8.1 A teszt helyes működésének ellenőrzése .....	5
8.2 A VIROTECH egységek (VE) számítása.....	6
8.3 A betegminták kiértékelése IgM és IgG .....	6
8.4 A teszt határai.....	6
<b>9. Irodalom</b> .....	<b>6</b>
<b>10. A vizsgálat folyamatábrája vázlata</b> .....	<b>7</b>

## 1. Alkalmazás célja

A Mumpsz ELISA mumpsz vírusok ellen termelt IgG- és IgM-antitestek humán szérumból történő szemikvantitatív és minőségi kimutatására szolgál. A vizsgálat során az IgM antitestek kimutatása akut fertőzés diagnosztizálására, az IgG antitestek kimutatása a szerológiai állapot meghatározására szolgál.

## 2. A teszt működési elve

A humán szérumból kimutatandó antitest immunkomplexet alkot a mikrotiter lemezre rögzített antigénnel. A meg nem kötött immunglobulinokat a mosási eljárás eltávolítja. Az említett immunkomplexhez köti az enzimkonjugátum. A meg nem kötött immunglobulinokat a mosási eljárás ismét eltávolítja. A szubsztrátoldat (TMB) hozzáadása után az enzim (peroxidáz) aktivitása egy kék színyt képez, mely a fixáló (stop) oldat hozzáadása után sárga színre változik.

## 3. A készlet tartalma IgG / IgM teszt készlet

### 3.1 IgG / IgM teszt készlet

1. **1 Mikrotiter lemez**, mely 96, antigénnel bevont, egyesével letörhető lyukból (reakcióedényből) áll (liofilizált).
2. **PBS hígítópuffer (kék, felhasználásra kész) 2x50ml**, pH 7,2, tartósítószerrel és Tween 20
3. **PBS mosóoldat (20x koncentrált) 50ml**, pH 7,2, tartósítószerrel és Tween 20
4. **IgG negatív kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
5. **IgG kimutatási határérték (cut-off) kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
6. **IgG pozitív kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
7. **IgM negatív kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
8. **IgM kimutatási határérték (cut-off) kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
9. **IgM pozitív kontroll, 1300 µl**, humán szérum fehérje-stabilizátorokkal és tartósítószerrel, felhasználásra kész
10. **IgG-konjugátum (anti-humán), 11ml**, (juh vagy kecske)-torma-peroxidáz konjugátum fehérjestabilizátorokkal és tartósítószerrel, Tris pufferben, felhasználásra kész
11. **IgM-konjugátum (anti-humán), 11ml**, (juh vagy kecske)-torma-peroxidáz konjugátum FCS-el és tartósítószerrel, Tris pufferben, felhasználásra kész
12. **Tetrametil-benzidin É szubsztrátoldat (3,3',5,5' TMB), 11ml**, felhasználásra kész
13. **Citrát fixáló (stop) oldat, 6 ml**, savkeveréket tartalmaz

## 4. A teszt készlet és a felhasználásra kész reagensek tárolása és eltarthatósága

A teszt készletet 2-8°C között kell tárolni. Az egyes komponensek eltarthatósága azok címkéjén található; a kit eltarthatósága tekintetében lásd a minőségellenőrzés tanúsítványt.

1. A szükséges lyukak felhasználása után a fennmaradó lyukakat / csíkokat zárt tasakban, 2-8°C-on, nedvszívó anyaggal együtt kell tárolni. A reagenseket használat után további tárolásra azonnal 2-8°C-ra kell tenni.
2. A felhasználásra kész konjugátum és a TMB oldat fényérzékeny és így ezeket sötétben kell tárolni. Ha a szubsztrátoldatot fény éri és ennek következtében elszíneződik, a továbbiakban nem használható fel. ki kell dobni.
3. Csak az elvégzendő teszthez szükséges mennyiség felhasználásra kész konjugátumot illetve TMB-t vegye ki az üvegekből. A feleslegben kivett konjugátumot illetve TMB-t ki kell önteni, az üvegekbe azokat visszatölteni nem szabad.

Anyag	Állapot	Tárolás	Tartósság
Vizsgálati minták	Hígított	+2 és +8°C között	max. 6 óra
	Hígítatlan	+2 és +8°C között	1 hét
Kontrollok	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
Mikrotiterlemez	felbontás után	+2 és +8°C között (Tárolás a mellékelt tasakban szárítószerrel)	3 hónap
Reumafaktor . abszorbens	Hígítatlan, felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
	Hígított	+2 és +8°C között	1 hét
Konjugátum	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
Tetrametil-benzidin (TMB)	felbontás után	+2 és +8°C között (fénytől védve)	3 hónap
Leállítóoldat	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap

Mosóoldat	felbontás után	+2 és +8°C között	3 hónap
	Véghígított (Használatra kész)	+2 és +25°C között	4 hét

## 5. Óvintézkedések és biztonsági elírások

1. Kontrollszérumként csak tesztelt és HIV1-antitestekre, HIV2-antitestekre, HCV-antitestekre és Hepatitis-B felületi antigénekre negatív eredményt mutatott szérum kerül alkalmazásra. Ennek ellenére valamennyi minta, hígított minta, konjugátum és mikrotiter csík potenciálisan fertőző anyagnak tekintendő. A termékek kezelése a laboratóriumi munkára általánosan vonatkozó szabályok szerint történjen.
2. A tartósítószeret tartalmazó komponensek, a citrát fixáló (stop) oldat és a TMB irritálják a bőrt, a szemet és a nyálkahártyát. Az érintett testrészt folyó vízzel azonnal le kell mosni, és szükség esetén orvoshoz kell fordulni.
3. A keletkezett hulladékot az érintett ország rendelkezéseinek megfelelően kell tárolni és elhelyezni.

## 6. További szükséges anyagok (a csomag nem tartalmazza)

1. Desztillált / ioncserélt víz
2. Nyolccsatornás pipetta, 50 µl és 100 µl
3. Mikropipetták: 10 µl, 100 µl és 1000 µl
4. Vegyszerüvegek
5. Papírkendők és itatóspapír
6. Fedő az ELISA lemezekhez
7. Hulladék tároló a fertőző anyagok számára
8. ELISA kézi- ill. automata mosó mikrotiter lemezekhez
9. Spektrofotométer ELISA lemezekhez, hullámhossz 450 nm, referencia hullámhossz: 620 nm (referenciahullám hossz 620-690nm).
10. Inkubátorszekrény

## 7. A vizsgálat elvégzése

Csak VIROTECH Diagnostics által elírt módszer pontos betartásával kapunk helyes eredményeket.

### 7.1 Vizsgálati anyag

Vizsgálati anyagként használható szérum és plazma (itt az antikoagulálás módjának nincs jelentősége), még akkor is, ha a csomag mellékletben csak szérumról van szó.

A pácienshígításokat mindig frissen kell elkészíteni.

Hosszabb tároláshoz a szérumokat le kell fagyasztani. A többszöri felolvasztást kerülni kell.

1. Csak friss, nem inaktivált szérumot szabad felhasználni.
2. Hiperlipémiás, hemolitikus és mikrobiológiailag fertőző mintákat, valamint zavaros szérumokat nem szabad felhasználni (hamis pozitív illetve negatív eredmények).

### 7.2 A reagensek előkészítése

A VIROTECH Diagnostics System Diagnostik nagyfokú rugalmasságot kínál azért, hogy a hígító- és mosópufferek, a TMB és a citrát fixáló (stop) oldat valamint a konjugátum különböző paraméterek mellett és eltérő gyártási tételek esetén is alkalmazhatóak. A felhasználásra kész kontrollok (pozitív kontroll, kimutatási határérték (cut-off) kontroll, negatív kontroll) paraméterfüggetlenek és kizárólag a minőségi tanúsítványban megadott lemez charge-zsal együtt alkalmazhatók.

1. Állítsa be az inkubátorszekrény hőmérsékletét 37°C-ra és az inkubáció megkezdése előtt bizonyosodjon meg róla, hogy az elérte a beállított hőmérsékletet.
2. Minden reagenst engedjen felmelegedni szobahőmérsékletre; csak ezután nyissa fel a tesztcsíkokat tartalmazó csomagot.
3. Minden folyékony komponenst jól rázzon felhasználat előtt.
4. A mosóoldat-koncentrátumot 1 l-re fel kell tölteni desztillált vagy demineralizált vízzel (ha a koncentrátumban esetleg kristályképzés és látható, kérjük az oldatot hígítás előtt szobahőmérsékletre melegíteni, és használat előtt jól felrázni).
5. A specifikus IgM-antitestek kimutatását zavarhatja a túl magas IgG-titer illetve reumafaktorok jelenléte, hamis pozitív illetve negatív eredményekhez vezetve. A **szérumokat el kell kezelni RF-SorboTech** (VIROTECH-adszorpciósszer) készítménnyel. IgM kontrollok esetében az előabszorpció lépés kimarad.

### 7.3 A VIROTECH ELISA vizsgálat elvégzése

1. Pipettázzon ki tesztenként 100 µl felhasználásra kész hígítópuffert (vak minta), negatív, határérték (cut-off) és pozitív IgG-, IgM kontrollt, valamint a hígított betegszérumokat. Minden esetben (vak, kontrollok, betegszérumok) javasoljuk hogy két párhuzamos mérést végezzen; a határérték (cut-off) kontrollok esetében a két mérés elvégzése feltétlenül szükséges. Munkahígítás betegszérumok esetében: 1+100; pl. 10 µl szérum + 1 ml hígítópuffer.
2. A reagensek kipipetázása után 30 perc 37°C-on történő inkubáció következik (fedő alatt).
3. Az inkubációs idő lejártá után mossa ki a lyukakat 4-szer 350-400 µl mosóoldattal (lyukanként). Mosóoldatot ne hagyjon a lyukakban állni. Papírtörölközőre csepegtesse ki a maradék oldatot.
4. Minden lyukba pipettázzon 100 µl felhasználásra kész konjugátumot.
5. Inkubálja a konjugátumot 30 percig 37°C-on (fedő alatt).
6. A konjugátum inkubálását 4-szeri mosással állítsa le. (ld. 3.pont).
7. Pipettázzon 100 µl felhasználásra kész TMB szubsztrátoldatot minden lyukba.
8. A hordozóoldat inkubációja: 30 perc 37°C-on (lefedve, sötét helyen).
9. Minden lyukba pipettázzon 50 µl citrát fixáló (stop) oldatot, így leállítva a szubsztrátreakciót. Óvatosan kevertesse a lemezt, amíg a folyadékok teljesen összekeverednek és egy egységes sárga szín láthatóvá válik.
10. Mérjen extinkciót 450/620 nm-en (referenciahullám hossza 620-690nm). Állítsa úgy be a fotométert, hogy a mért vak érték a többi extinkciós értékkel levonásra kerüljön (nullázza a fotométert az üres értékre). A fotometriás mérést a fixáló (stop) oldat hozzáadása után egy órán belül el kell végezni.

**A vizsgálat folyamatábráját ld. az utolsó oldalon**

### 7.4 ELISA-procresszor alkalmazása

Valamennyi VIROTECH Diagnostics ELISA termék alkalmas ELISA processzorokkal való használatra. A felhasználó köteles a műszer érvényesítését rendszeresen elvégeztetni.

A VIROTECH Diagnostics a következő eljárást javasolja:

1. Az ELISA processzor üzembehelyezése ill. nagyobb javítása esetén javasoljuk, hogy végeztesse el a készülék hitelesítését a gyártó elírásai szerint.
2. Javasoljuk, hogy az ELISA processzort ellenőrizze a hitelesítéskit (EC250.00) segítségével is. A hitelesítéskittel történő ellenőrzést legalább negyedévenként ajánlott elvégezni.
3. Minden mérési sorozat során meg kell felelni a termék minőségi tanúsítványában szereplő minőségi ellenőrzési kritériumoknak.

Ez az eljárásmód biztosítja az ELISA processzor kifogástalan működését, és ezen túl a labor minőségbiztosítását is szolgálja.

## 8. A vizsgálati eredmények kiértékelése

A felhasználásra kész kontrollok a specifikus IgG-, IgA- és IgM-antitestek koncentrációjának VIROTECH egységekben (=VE) történő szemikvantitatív meghatározására szolgálnak. A teszt végrehajtása során előforduló ingadozásokat a számítási módszer kiegyenlíti, ezáltal nagyfokú reprodukálhatóságot érve el. A VE kiszámításához az OD-értékek átlagát kell használni.

### 8.1 A teszt helyes működésének ellenőrzése

a) OD-értékek

Az üres minta OD-értéke <0,15 kell, hogy legyen.

A negatív kontrollok OD-értékeinek a minőségi tanúsítványban megadott OD-értékek alatt, míg a pozitív kontrollok és a cut-off kontrollok OD-értékeinek a minőségi tanúsítványban megadott OD-értékek felett kell lenniük.

b) VIROTECH egységek (VE)

A cut-off kontrollok VIROTECH egységekben (VE) megadott értéke 10 VE-ben van meghatározva. A pozitív kontrollok VE-értékeinek a minőségi tanúsítványban megadott értéktartományon belül kell lenniük.

Amennyiben a fenti feltételek (OD-értékek, VE értékek) nem teljesülnek, a tesztet meg kell ismételni.

## 8.2 A VIROTECH egységek (VE) számítása

A vak minta extinkcióját (450/620 nm) minden extinkcióból ki kell vonni.

$$VE_{\text{(pozitív kontroll)}} = \frac{OD_{\text{(pozitív kontroll)}}}{OD_{\text{(cut-off kontroll)}}} \times 10$$
$$VE_{\text{(betegszérum)}} = \frac{OD_{\text{(betegszérum)}}}{OD_{\text{(cut-off kontroll)}}} \times 10$$

## 8.3 A betegminták kiértékelése IgM és IgG

Eredmény (VE)	Kiértékelés
< 9,0	negatív
9,0 - 11,0	kétséges diagnózis
> 11,0	pozitív

- Amennyiben a minta mért VE értéke a határérték felett van, a mintát pozitívnak kell tekinteni.
- Ha a mért VE értékek a megadott határérték tartományba esnek, az antitestek koncentrációja nem számottevő és a mintát határértéken levőnek kell tekinteni. A fertőzés biztos kimutatásához két szérummintából szükséges az antitestet kimutatni. Egy szérummintát közvetlenül a fertőzés kezdete után, egyet pedig 5-10 nappal később (rekonvaleszcens szérum) kell tesztelni. Az antitest-koncentrációt párhuzamosan, egyetlen teszt mérés során kell meghatározni mindkét mintából. Egyetlen szérumminta eredményei alapján korrekt diagnózis nem állítható fel.
- Ha a mért értékek a meghatározott határérték alá esnek, a mintából nem mutatható ki antigénspecifikus antitest. A mintát negatívnak kell tekinteni.

## 8.4 A teszt határai

- A szerológiai eredmények interpretációja során mindig figyelembe kell venni a klinikai összképet, az epidemiológiai adatokat valamint az esetlegesen rendelkezésre álló további laboratóriumi leleteket.
- Anti-kettősszálú-DNS ( $\alpha$ -dsDNS) szérumok (ANA, szisztémás *Lupus erythematoses*) keresztreaktivitást adnak a VIROTECH Diagnostics Mumps ELISA vizsgálatban.

## 9. Irodalom

- 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. Replow 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: sLabor diagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen%\\$2k-Leitlinie](#)

### A betegminták és a mosóoldat el készítése

**Mosóoldat:** A koncentrátumot hígítsa fel 1 literre desztillált vagy ioncserélt vízzel.

**IgG-/IgA- minták Ę hígítás**  
**1:101**

pl.:  
10 µl szérum/plazma + 1000 µl hígítópuffer.  
(a szérum hígítópuffer felhasználásra kész)

**IgM- minták Ę hígítás**  
**1:101**

**Reumafaktor-abszorpció RF-SorboTech-hel**

pl.:  
5 µl szérum/plazma + 450 µl hígítópuffer +  
1 csepp RF-SorboTech, 15 perc inkubáció  
szobah mérsékleten

### A vizsgálat elvégzése

