



Instructions for Use

Rubella IgM ELISA

IVD

CE 0197

REF EIA-3511

Σ 96



DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße 18, 35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

Distributed by:



DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti

1	INTENDED USE	2
2	PRINCIPLE OF THE TEST.....	2
3	WARNINGS AND PRECAUTIONS.....	3
4	REAGENTS	4
5	SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	5
6	ASSAY PROCEDURE	6
7	CALCULATION OF RESULTS	7
8	QUALITY CONTROL	8
9	PERFORMANCE CHARACTERISTICS	8
10	LIMITATIONS OF USE	10
11	LEGAL ASPECTS.....	10

1	ZWECKBESTIMMUNG.....	11
2	TESTPRINZIP.....	12
3	VORSICHTSMAßNAHMEN	12
4	BESTANDTEILE DES KITS.....	13
5	PROBENVORBEREITUNG	14
6	TESTDURCHFÜHRUNG	15
7	ERGEBNISSE.....	16
8	QUALITÄTSKONTROLLE	17
9	ASSAY-CHARAKTERISTIKA	17
10	GRENZEN DES TESTES	17
11	RECHTLICHE GRUNDLAGEN.....	18

1	DESTINAZIONE D'USO	19
2	PRINCIPIO DEL TEST	20
3	PRECAUZIONI	20
4	COMPONENTI DEL KIT	21
5	CAMPIONI	22
6	ATTUAZIONE DEL TEST	23
7	RESULTATI	24
8	CONTROLLO QUALITÀ	25
9	CARATTERISTICHE DEL TEST	25
10	LIMITAZIONI.....	25
11	ASPETTI LEGALI	26

12	REFERENCES / LITERATURE / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA	27
----	---	----

	SYMBOLS USED	28
--	--------------------	----

	SHORT INSTRUCTIONS FOR USE	29
--	----------------------------------	----

1 INTENDED USE

The **DRG Rubella Virus IgM Enzyme Immunoassay Kit** provides materials for the **quantitative** and **qualitative** determination of IgM-class antibodies to Rubella Virus in human serum and plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma).

This assay is intended for in vitro diagnostic use only.

1.1 Summary and Explanation

Rubella is an enveloped RNA virus belonging to the togavirus. It has a spherical shape measuring about 50-70 nm in diameter. There appears to be only one antigenic type, and no cross-reactivity with alphavirus or other members of the togavirus group has been found.

Rubella viruses are pathogens of the respiratory tract and transmitted mainly by droplet infection. Rubella is a worldwide common contagious disease with mild constitutional symptoms and a generalized rash. In childhood, it is an inconsequential illness, but when it occurs during pregnancy, there is a significant risk of severe damage to the fetus. The risk of congenital rubella depends primarily on the month of pregnancy in which infection is acquired: overall, app. 16 % of infants have major defects at birth following maternal rubella in the first 3 months of pregnancy. Congenital rubella infection may lead to a syndrome with single or multiple organ involvements, known as embryopathy rubeolosa. In some cases infection is inapparent but results in consequential damages as eye defects, deafness, growth retardation, and others. Naturally acquired immunity usually is long-lasting, but reinfection is possible due to decreasing levels of circulating antibodies. For immunization a vaccine containing live virus is used.

Rubella Infection may be identified by detection of virus by PCR (prenatal), Hemagglutination inhibition (HAI), Haemolysis-in-gel test (HiG), detection of antibodies by EIA, ELISA.

Measurement of antibodies in the serum is important for the determination of the immune status. Even a previous infection though rather overt may not yield a long-lasting immunity, but may result in an antibody titer too low to prevent reinfection. Especially the screening of adolescents and young women should be a mandatory routine in prenatal care.

Rubella Antibody detection:

Age	IgM	IgG	Interpretation
Adult/Child	Positive	Positive or Negative	Recent infection
Adult/Child	Negative	Positive	Prior infection or vaccination, immune
Newborn	Negative	Positive	Maternal immunities, passive immunity for up to six months

2 PRINCIPLE OF THE TEST

The **DRG Rubella Virus IgM ELISA** Kit is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

This ELISA is using a RF-Sorbent.

The Rheumatoid factor (RF) is a special autoantibody form. These are autoantibodies, which are directed against the Fc fragment of human IgG.

The RF autoantibodies are mostly class IgM, but may also be class IgA, IgG or IgE.

Rheumatoid factors are associated with rheumatoid arthritis. But they can also be detectable in other diseases (e.g. tuberculosis, salmonellosis, syphilis, etc.) and even in healthy individuals. In about 5 % of all healthy people, elevated RF values can be found; the titer increases with increasing age.

The use of anti-human IgG antibodies in the RF-sorbent prevents false positive or false negative results.

Patient samples are diluted with *Sample Diluent* and additionally incubated with *IgG-RF-Sorbent*

Microtiter wells as a solid phase are coated with inactivated K1S grade Rubella Virus antigen (strain HPV-77).

Diluted patient specimens and **ready-for-use controls** are pipetted into these wells. During incubation Rubella Virus-specific antibodies of positive specimens and controls are bound to the immobilized antigens.

After a washing step to remove unbound sample and control material horseradish peroxidase conjugated anti-human IgM antibodies are dispensed into the wells. During a second incubation this anti-IgM conjugate binds specifically to IgM antibodies resulting in the formation of enzyme-linked immune complexes.

After a second washing step to remove unbound conjugate the immune complexes formed (in case of positive results) are detected by incubation with TMB substrate and development of a blue colour. The blue colour turns into yellow by stopping the enzymatic indicator reaction with sulfuric acid.

The intensity of this colour is directly proportional to the amount of Rubella Virus-specific IgM antibody in the patient specimen. Optical density at 450 nm is read using an ELISA microtiter plate reader.

3 WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This kit is for in vitro diagnostic use only. For professional use only.
- Before starting the assay, read the instructions completely and carefully. Use the valid version of the package insert provided with the kit. Be sure that everything is understood.
- All reagents of this test kit which contain human serum or plasma have been tested and confirmed negative for HIV I/II, HBsAg and HCV by FDA approved procedures. All reagents, however, should be treated as potential biohazards in use and for disposal.
- Avoid contact with Stop Solution containing 0.2 mol/L H₂SO₄. It may cause skin irritation and burns.
- TMB substrate has an irritant effect on skin and mucosa. In case of possible contact, wash eyes with an abundant volume of water and skin with soap and abundant water. Wash contaminated objects before reusing them. If inhaled, take the person to open air.
- The microplate contains snap-off strips. Unused wells must be stored at 2 °C to 8 °C in the sealed foil pouch and used in the frame provided
- Pipetting of samples and reagents must be done as quickly as possible and in the same sequence for each step.
- Use reservoirs only for single reagents. This especially applies to the substrate reservoirs. Using a reservoir for dispensing a substrate solution that had previously been used for the conjugate solution may turn solution colored. Do not pour reagents back into vials as reagent contamination may occur.
- Mix the contents of the microplate wells thoroughly to ensure good test results. Do not reuse microwells.
- Do not let wells dry during assay; add reagents immediately after completing the rinsing steps.
- Allow the reagents to reach room temperature (21 °C to 25 °C) before starting the test. Temperature will affect the optical density readings of the assay. However, values for the patient samples will not be affected.
- Never pipette by mouth and avoid contact of reagents and specimens with skin and mucous membranes.
- Do not smoke, eat, drink or apply cosmetics in areas where specimens or kit reagents are handled.
- Wear disposable latex gloves when handling specimens and reagents. Microbial contamination of reagents or specimens may give false results.
- Handling should be in accordance with the procedures defined by an appropriate national biohazard safety guideline or regulation.
- Do not use reagents beyond expiry date as shown on the kit labels.
- All indicated volumes have to be performed according to the protocol. Optimal test results are only obtained when using calibrated pipettes and microtiter plate readers.
- Do not mix or use components from kits with different lot numbers. It is advised not to exchange wells of different plates even of the same lot. The kits may have been shipped or stored under different conditions and the binding characteristics of the plates may result slightly different.
- Chemicals and prepared or used reagents have to be treated as hazardous waste according the national biohazard safety guideline or regulation.
- For information on hazardous substances included in the kit please refer to Safety Data Sheets. Safety Data Sheets for this product are available upon request directly from DRG.

4 REAGENTS

4.1 Reagents provided

1. **Microtiterwells**, 12 x 8 (break apart) strips, 96 wells;
Wells coated with inactivated K1S grade Rubella Virus antigen (strain HPV-77).
(incl. 1 cover foil)
2. **Sample Diluent** *, 1 vial, 100 mL, ready to use;
contains anti-human IgG-class antibody, pH 7.2 ± 0.2;
coloured yellow
3. **IgG-RF-Sorbent** *, 1 vial, 6.5 mL, ready to use,
contains anti-human IgG-class antibody;
coloured yellow
4. **Standard (Standard 1 - 3)***, 3 vials, S1 – S3 with 2.0 mL, ready to use;
Concentrations: 75, 150, 300 DU/mL;
Standard 1, coloured green, green cap;
Standard 2, coloured blue, blue cap;
Standard 3, coloured red, red cap.
5. **Neg. Control** *, 1 vial, 2.0 mL, ready to use;
colored yellow, yellow cap.
6. **Pos. Control***, 1 vial, 2.0 mL, ready to use;
coloured purple, black cap.
7. **Enzyme Conjugate** *, 1 vial, 20 mL, ready to use;
antibody to human IgM conjugated to horseradish peroxidase.
coloured red
8. **Substrate Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
Tetramethylbenzidine (TMB).
9. **Stop Solution**, 1 vial, 14 mL, ready to use;
contains 0.2 mol/L H₂SO₄;
Avoid contact with the stop solution. It may cause skin irritations and burns.
10. **Wash Solution** *, 1 vial, 30 mL (20X concentrated for 600 mL), pH 6.5 ± 0.1;
see „Preparation of Reagents“.

* Contain non-mercury preservative.

4.1.1 Material required but not provided

- A microtiter plate calibrated reader (450 nm/620 nm ± 10 nm)
- Calibrated variable precision micropipettes
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Vortex tube mixer
- Freshly distilled water
- Timer
- Absorbent paper

4.2 Storage Conditions

When stored at 2 °C to 8 °C unopened reagents will retain reactivity until expiration date. Do not use reagents beyond this date.

Opened reagents must be stored at 2 °C to 8 °C. Microtiter wells must be stored at 2 °C to 8 °C. Once the foil bag has been opened, care should be taken to close it tightly again.

Opened kits retain activity for 8 weeks if stored as described above.

4.3 Reagent Preparation

Allow all reagents and required number of strips to reach room temperature (20 °C to 25 °C) prior to use.

Wash Solution

Dilute *Wash Solution 1+19* (e.g. 10 mL + 190 mL) with fresh and germ free redistilled water. This diluted wash solution has a pH value of 7.2 ± 0.2 .

Consumption: ~ 5 mL per determination.

Crystals in the solution disappear by warming up to 37 °C in a water bath. Be sure that the crystals are completely dissolved before use.

The diluted Wash Solution is stable for 1 week at 2 °C to 8 °C.

4.4 Disposal of the Kit

The disposal of the kit must be made according to the national regulations. Special information for this product is given in the Safety Data Sheets.

4.5 Damaged Test Kits

In case of any severe damage to the test kit or components, DRG has to be informed in writing, at the latest, one week after receiving the kit. Severely damaged single components should not be used for a test run. They have to be stored until a final solution has been found. After this, they should be disposed according to the official regulations.

5 SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum or plasma (EDTA, lithium heparin or citrate plasma) can be used in this assay.

In general, it should be avoided to use haemolytic, icteric or lipaemic specimens. For further information refer to chapter "Interfering Substances"

5.1 Specimen Collection

Serum:

Collect blood by venipuncture (e.g. Sarstedt Monovette for serum), allow to clot, and separate serum by centrifugation at room temperature. Do not centrifuge before complete clotting has occurred. Patients receiving anticoagulant therapy may require increased clotting time.

Plasma:

Whole blood should be collected into centrifuge tubes containing anti-coagulant (e.g. Sarstedt Monovette with the appropriate plasma preparation) and centrifuged immediately after collection.

5.2 Specimen Storage and Preparation

Specimens should be capped and may be stored for up to 4 days at 2 °C to 8 °C prior to assaying.

Specimens held for a longer time should be frozen only once at -20 °C prior to assay. Thawed samples should be inverted several times prior to testing.

5.3 Specimen Dilution

Prior to assaying each patient specimen is first to be diluted with *Sample Diluent*. For the absorption of rheumatoid factor these prediluted samples then have to be incubated with *IgG-RF-Sorbent*.

1. Dilute each patient specimen **1+50** with *Sample Diluent*, e.g. 10 µL of specimen + 0.5 mL of *Sample Diluent*. **Mix well.**
2. Mix well the *IgG-RF-Sorbent* before use.
3. Dilute this prediluted sample **1+1** with *IgG-RF-Sorbent* e.g. 60 µL prediluted sample + 60 µL *IgG-RF-Sorbent*. **Mix well**
4. **Let stand at room temperature for at least 15 minutes, up to a maximum of 2 hours and mix well again.**
5. Take 100 µL of these pretreated samples for the ELISA.

Please note: Standards and Controls are ready for use and must not be diluted!

6 ASSAY PROCEDURE

6.1 General Remarks

- **It is very important to bring all reagents, samples and controls to room temperature before starting the test run!**
- Once the test has been started, all steps should be completed without interruption.
- Use new disposal plastic pipette tips for each standard, control or sample in order to avoid cross contamination
- Optical density is a function of the incubation time and temperature. Before starting the assay, it is recommended that all reagents are ready, caps removed, all needed wells secured in holder, etc. This will ensure equal elapsed time for each pipetting step without interruption.
- As a general rule the enzymatic reaction is linearly proportional to time and temperature.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- During 37 °C incubation cover microtiter strips with foil to avoid evaporation.

6.2 Test Procedure

Prior to commencing the assay, dilute *Wash Solution*, **prepare patient samples as described in point 5.3** and carefully establish the **distribution and identification plan** supplied in the kit for all standards, specimens and controls.

1. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Please allocate at least:

1 well	(e.g. A1)	for the <i>Neg. Control</i> ,
4 wells	(e.g. from B1 on)	for the <i>Standard 1-3</i>
1 well	(e.g. F1)	for the <i>Pos. Control</i>

It is left to the user to determine controls and patient samples in duplicate.

2. Dispense

100 µL of <i>Neg. Control</i>	into well	A1
100 µL of <i>Standard 1</i>	into well	B1 + C1
100 µL of <i>Standard 2</i>	into well	D1
100 µL of <i>Standard 3</i>	into well	E1
100 µL of <i>Pos. Control</i>	into well	F1
100 µL of each pre-treated sample	<u>with new disposable tips</u>	into appropriate wells.

3. Cover wells with foil supplied in the kit. Incubate for **60 minutes at 37 °C**.
4. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells **5 times** with diluted *Wash Solution* (**300 µL per well**). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
Important note: The sensitivity and precision of this assay is markedly influenced by the correct performance of the washing procedure!
5. Dispense **100 µL** *Enzyme Conjugate* into each well.
6. Incubate for **30 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C)**.
Do not expose to direct sun light!
7. Briskly shake out the contents of the wells.
Rinse the wells **5 times** with diluted *Wash Solution* (300 µL per well). Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.
8. Add **100 µL** of *Substrate Solution* into all wells.
9. Incubate for **exactly 15 minutes at room temperature (20 °C to 25 °C) in the dark**.
10. Stop the enzymatic reaction by adding **100 µL** of *Stop Solution* to each well.
Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.
Note: Highly positive patient samples can cause dark precipitates of the chromogen!
11. Read the optical density at **450 nm/620 nm** with a microtiter plate reader **within 30 minutes** after adding the *Stop Solution*.

6.3 Measurement

Measure the optical density (OD) of all wells at **450 nm** and record the OD values for each control and patient sample in the distribution and identification plan.

Dual wavelength reading using 620 nm as reference wavelength is recommended.

Where applicable **calculate the mean OD values** of all duplicates.

7 CALCULATION OF RESULTS

7.1 Validation of the Test Run

The test run may be considered valid provided the following criteria are met:

Neg. Control in A1:	OD value lower than 0.20
Standard 1 (Cut-off) in B1 + C1:	OD value between 0.35 – 0.85
Standard 2 in D1:	OD value between 0.75 – 1.50
Standard 3 in E1:	OD value between 1.00 – 2.00
Pos. Control in F1:	OD value between 0.65 – 3.00

7.2 Calculation of quantitative Results

In order to obtain **quantitative results in DU/mL** plot the (mean) OD values of *Neg. Control* and Standards 1, 2, 3 on (linear/linear) graph paper in a system of coordinates against their corresponding concentrations (0, 75, 150 and 300 DU/mL) and draw a standard calibration curve (OD values on the vertical y-axis, concentrations on the horizontal x-axis).

Read results from this standard curve employing the (mean) OD values of each patient specimen and control. All validated computer programs can be used, that provide the following function: 4 PL (4 Parameter Logistics). DRG uses the DRG regression program for Windows (4 parameter Rodbard regression). If other regression software is used, the obtained values have to be validated by the user.

NOTE: Values of additionally (1:10, in total 1:1000) diluted patient samples must be multiplied by the appropriate dilution factor in order to obtain correct results! (Dilution: 1:10 = Dilution factor: 10). (See chapter "5.3 Specimen Dilution").

7.3 Interpretation of quantitative Results

The following values should be considered as a guideline:

NEGATIVE:	< 68 DU/mL
CUT-OFF VALUE:	75 DU/mL
GREY ZONE (equivocal):	68 – 83 DU/mL
POSITIVE:	> 83 DU/mL

7.4 Calculation of qualitative Results

Absorbance value of **Standard 1 (Cut-off) = CO**

Example: 0.600 = CO

7.5 Interpretation of qualitative Results

NEGATIVE	Mean OD_{patient} < OD_{CO} - 10 %
GREY ZONE	OD_{CO} -10 % ≤ Mean OD_{patient} ≤ OD_{CO} +10 % Repeat test 2 - 4 weeks later - with new patient samples Results in the second test again in the grey zone → NEGATIVE
POSITIVE	Mean OD_{patient} > OD_{CO} +10 %

8 QUALITY CONTROL

It is recommended to use control samples according to state and federal regulations. The use of control samples is advised to assure the day to day validity of results. Use controls at both normal and pathological levels.

It is also recommended to make use of national or international Quality Assessment programs in order to ensure the accuracy of the results.

If the results of the assay do not fit to the established acceptable ranges of control materials patient results should be considered invalid.

In this case, please check the following technical areas: Pipetting and timing devices; photometer, expiration dates of reagents, storage and incubation conditions, aspiration and washing methods.

After checking the above mentioned items without finding any error contact your distributor or DRG directly.

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Assay Dynamic Range

The range of the assay is between 1.53 - 300 DU/mL.

9.2 Specificity of Antigen (Cross Reactivity)

No cross reactivity was found for Measles, Mumps, Varicella zoster Virus, Parvovirus B19, Epstein-Barr-Virus (VCA) and Dengue-2 Virus.

9.3 Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity of the DRG ELISA was calculated by adding 2 standard deviations to the mean OD of 20 replicate analyses of the zero standard (= negative control) and was found to be 1.53 DU/mL (OD_{450nm} 0.032).

9.4 Diagnostic Specificity

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. (Detected by method comparison with Diamed Eurogen ELISA with three lots of DRG ELISA, 134 samples, therefrom 112 negative samples are assayed.)

It is 100 % for all three DRG production lots.

9.5 Diagnostic Sensitivity

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. (Detected by method comparison with Diamed Eurogen ELISA, 134 samples, therefrom 20 positive samples are assayed.)

It is 90.9 % for all three DRG production lots.

Additional study with increased number of positive samples was performed with 39 positive samples in comparison with NovaTec Rubella IgM ELISA.

It is 100 % for all three DRG production lots.

9.6 Method Comparison

The DRG Rubella IgM ELISA was compared with another Rubella IgM ELISA (Diamed Eurogen). 134 serum samples are assayed.

		Diamed ELISA	
		pos.	neg.
n = 134			
DRG ELISA Lot 1	pos.	20	0
	neg.	2	112

Agreement: 98.5 %

Additional comparison study with 39 positive samples compared with NovaTec μ-capture Rubella IgM ELISA.

		NovaTec ELISA	
		pos.	neg.
n = 39			
DRG ELISA Lot 1	pos.	39	0
	neg.	0	0

Agreement: 100 %

9.7 Reproducibility

9.7.1 Intra-assay

The intra-assay (within-run) precision of the DRG Rubella IgM ELISA was determined by 20 x measurements of 12 serum samples covering the whole measuring range.

Sample	Mean Conc. (DU/mL)	Intra-Assay CV (%)	n
1	48.0	4.3	20
2	39.4	4.2	20
3	39.2	3.0	20
4	76.6	3.1	20
5	109.5	3.7	20
6	81.5	3.7	20
7	165.8	5.9	20
8	109.5	3.7	20
9	207.7	9.0	20
10	291.8	4.3	20
11	341.2	9.6	20
12	268.8	8.7	20

Mean Intra Assay CV 5.3 %

9.7.2 Inter-assay

The inter-assay variation of the DRG Rubella IgM ELISA was determined with 3 samples with 2 production kits in 10 independent runs with 2 replicates per run.

Sample	Mean Conc. (DU/mL)	Inter-Assay CV (%)	n
1	81.5	14.8	40
2	211.5	14.1	40
3	381.1	9.0	40

9.8 Recovery

Recovery of the DRG Rubella IgM ELISA was determined by adding increasing amounts of the analyte to three different sera containing different amounts of endogenous analyte. The percentage recoveries were determined by comparing expected and measured values of the samples. OD values / DRG Units should increase with addition of increasing analyte concentrations.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration [DU/mL]	20.8	26.6	31.7
Average Recovery	105.9	112.4	114.2
Range of Recovery [%]	from	103.5	107.1
	to	109.7	117.9

9.9 Linearity

Three samples (serum) containing different amounts of analyte were serially diluted with sample diluent and assayed with the DRG ELISA. The percentage recovery was calculated by comparing the expected and measured values for the analyte.

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
Concentration [DU/mL]	307.1	237.3	119.2
Average Recovery	99.7	104.2	106.2
Range of Recovery [%]	from	86.3	91.6
	to	113.5	113.9

10 LIMITATIONS OF USE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the OD values. In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

10.1 Interfering Substances

Haemoglobin (up to 4 mg/mL), Bilirubin (up to 0.5 mg/mL) and Triglyceride (up to 30 mg/mL) have no influence on the assay results.

11 LEGAL ASPECTS

11.1 Reliability of Results

The test must be performed exactly as per the manufacturer's instructions for use. Moreover the user must strictly adhere to the rules of GLP (Good Laboratory Practice) or other applicable national standards and/or laws. This is especially relevant for the use of control reagents. It is important to always include, within the test procedure, a sufficient number of controls for validating the accuracy and precision of the test.

The test results are valid only if all controls are within the specified ranges and if all other test parameters are also within the given assay specifications. In case of any doubt or concern please contact DRG.

11.2 Therapeutic Consequences

Therapeutic consequences should never be based on laboratory results alone even if all test results are in agreement with the items as stated under point 11.1. Any laboratory result is only a part of the total clinical picture of a patient. Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data.

Only in cases where the laboratory results are in acceptable agreement with the overall clinical picture of the patient should therapeutic consequences be derived.

The test result itself should never be the sole determinant for deriving any therapeutic consequences.

11.3 Liability

Any modification of the test kit and/or exchange or mixture of any components of different lots from one test kit to another could negatively affect the intended results and validity of the overall test. Such modification and/or exchanges invalidate any claim for replacement.

Claims submitted due to customer misinterpretation of laboratory results subject to point 11.2 are also invalid.

Regardless, in the event of any claim, the manufacturer's liability is not to exceed the value of the test kit. Any damage caused to the test kit during transportation is not subject to the liability of the manufacturer.

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der **DRG Rubella Virus IgM ELISA** wird zum **quantitativen** und **qualitativen** Nachweis von IgM-Antikörpern gegen Rubella Virus in Humanserum oder -plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) eingesetzt.

Nur für In-vitro Diagnostik.

1.1 Klinische Bedeutung

Das Röteln-Virus ist ein umhüllter RNA-Virus aus der Togavirus-Gruppe. Es hat eine sphärische Form mit Abmessungen von etwa 50-70 nm im Durchmesser. Es scheint nur einen antigenen Typ zu geben, und es wurde keine Kreuzreaktivität mit Alphavirus oder anderen Mitgliedern der Gruppe Togavirus gefunden.

Röteln-Viren sind Krankheitserreger der Atemwege und werden hauptsächlich durch Tröpfcheninfektion übertragen. Röteln ist eine weltweite auftretende ansteckende Krankheit mit milden konstitutionellen Symptomen und einem generalisierten Hautausschlag. In der Kindheit ist es eine belanglose Krankheit, aber wenn es während der Schwangerschaft auftritt, besteht das signifikante Risiko einer schweren Schädigung des Fötus.

Das Risiko von kongenitalen Röteln hängt vor allem vom Monat der Schwangerschaft ab, bei denen die Infektion erworben wird: Ungefähr 16 % der Säuglinge haben erhebliche Mängel bei der Geburt nach mütterlichen Röteln in den ersten 3 Monaten der Schwangerschaft. Eine kongenitale Rötelninfektion kann zu einem Syndrom führen, das mit einzelnen oder mehreren Organen in Zusammenhang steht, und bekannt ist als Embryopathia Rubeolosa. In einigen Fällen ist die Infektion inapparent, führt aber unter anderem zu Folgeschäden wie Augen-Defekten, Taubheit, Wachstumsretardierung. Natürlich erworbene Immunität ist in der Regel lang anhaltend, aber eine Reinfektion ist möglich durch Verminderung der Zahl der zirkulierenden Antikörper. Für die Immunisierung wird ein Lebend-Impfstoff verwendet.

Eine Röteln-Infektion kann durch den Nachweis von Viren mittels PCR (pränatal), Hemagglutinationshemmung (HAI), Hämolyse-in-Gel-Test (HIG), Nachweis von Antikörpern mittels EIA, ELISA identifiziert werden.

Ein Nachweis von Antikörpern im Serum ist wichtig zur Bestimmung des Immunstatus. Eine mögliche frühere Infektion, wird nicht zu einer dauernden Immunität verhelfen, kann aber zu einem zu niedrigen Antikörper-Titer führen, um eine Reinfektion zu verhindern. Vor allem das Screening von Jugendlichen und jungen Frauen sollte eine obligatorische Routineuntersuchung in der Schwangerschaftsvorsorge sein.

Rubella-Antikörper-Messung:

Alter	IgM	IgG	Interpretation
Erw./Kind	Positiv	Positiv oder negativ	FrISCHE Infektion
Erw./Kind	Negativ	Positiv	Frühere Infektion, Impfung
Neugeborene	Negativ	Positiv	Immunität der Mutter, passive Immunität für bis zu 6 Monaten

2 TESTPRINZIP

Der **DRG Rubella Virus IgM ELISA** ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay.

In diesem ELISA wird ein IgG-RF-Sorbent eingesetzt.

Der Rheumafaktor (RF) ist eine besondere Autoantikörperform. Es handelt sich dabei um Autoantikörper, die wiederum selbst gegen Antikörper gerichtet sind und zwar gegen das Fc-Fragment der menschlichen IgG.

Die RF-Autoantikörper sind meistens Klasse IgM, können aber auch Klasse IgA, IgG oder IgE sein.

Die Rheumafaktoren werden mit der rheumatoiden Arthritis in Verbindung gebracht. Aber auch bei anderen Erkrankungen (z.B. Tuberkulose, Salmonellose, Syphilis u.a.) und sogar bei Gesunden können sie nachweisbar sein. Bei rund 5 % aller Gesunden können erhöhte RF-Werte gefunden werden; dabei steigt der Titer mit zunehmenden Alter.

Durch die Verwendung von Anti-human-IgG-Antikörpern im RF-Sorbent werden falsch positive oder falsch negative Ergebnisse verhindert.

In einem dem Testablauf vorangehenden vorbereitenden Schritt werden die Patientenproben mit *Sample Diluent* verdünnt und zusätzlich mit *IgG-RF-Sorbent* inkubiert.

Vertiefungen einer Mikrotiterplatte als Festphase sind mit inaktiviertem K1S Grade Rubella Virus-Antigen beschichtet (Strain HPV-77). In diese Vertiefungen werden **verdünnte** Patientenproben und **gebrauchsfertige** Kontrollen pipettiert.

Während der darauf folgenden Inkubation werden Rubella Virus-spezifische Antikörper positiver Proben und Kontrollen an die immobilisierten Antigene gebunden.

Nach einem Waschvorgang zur Entfernung von nicht gebundenem Kontroll- und Probenmaterial wird Anti-human-IgM-Meerrettichperoxidase-Konjugat zugegeben, das sich während einer weiteren Inkubation spezifisch an IgM-Antikörper bindet und dadurch zur Bildung enzymmarkierter Immunkomplexe führt.

Durch einen zweiten Waschvorgang wird ungebundenes Konjugat entfernt.

Die (bei positiven Resultaten) gebildeten Immunkomplexe werden durch Inkubation mit TMB-Substrat anhand einer blauen Farbreaktion, die nach Abstoppen der enzymatischen Reaktion mit Schwefelsäure in gelb umschlägt, sichtbar und messbar gemacht.

Die Intensität der gebildeten Farbe ist der Anti-Rubella Virus IgM Antikörpermenge in der Patientenprobe direkt proportional. Die Messung der optischen Dichte bei 450 nm erfolgt mit einem Mikrotiterplatten-Photometer (ELISA-Reader).

3 VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Kit ist nur zum in vitro diagnostischen Gebrauch geeignet. Nur für den professionellen Gebrauch.
- Nur die gültige, im Testkit enthaltene, Arbeitsanleitung verwenden.
- Informationen zu im Kit enthaltenen gefährlichen Substanzen entnehmen Sie bitte dem Materialsicherheitsdatenblatt.
- Alle Bestandteile dieses Testkits, die humanes Serum oder Plasma enthalten, wurden mit FDA-geprüften Methoden auf HIV I/II, HbsAg und HCV getestet und als negativ bestätigt. Jedoch sollten alle Bestandteile im Umgang und bei der Entsorgung wie mögliche Gefahrenstoffe betrachtet werden.
- Der Kontakt mit der *Stop Solution* sollte vermieden werden, da sie 0,2 mol/L H₂SO₄ enthält. Schwefelsäure kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
- Nicht mit dem Mund pipettieren und den Kontakt von Kitbestandteilen und Proben mit Haut und Schleimhäuten vermeiden.
- In den Bereichen, in denen Proben oder Kitbestandteile verwendet werden, nicht rauchen, essen oder Kosmetika verwenden.
- Beim Umgang mit Proben oder Reagenzien Einweg-Latexhandschuhe tragen. Die Verunreinigung von Reagenzien oder Proben mit Mikroben kann zu falschen Ergebnissen führen.
- Der Gebrauch sollte gemäß der Vorschriften einer entsprechenden nationalen Gefahrenstoff-Sicherheitsrichtlinie erfolgen.
- Reagenzien nicht nach dem auf dem Kit-Etikett angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Alle im Kit-Protokoll angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden. Optimale Ergebnisse können nur durch Verwendung kalibrierter Pipetten und Mikrotiterplatten-Lesegeräte erreicht werden.
- Komponenten von Kits mit unterschiedlichen Lotnummern nicht untereinander vertauschen. Es wird empfohlen, keine Wells von verschiedenen Platten zu verwenden, auch nicht, wenn es sich um das gleiche Lot handelt. Die Kits können unter anderen Bedingungen gelagert oder versendet worden sein, so dass die Bindungscharakteristik der Platten leicht unterschiedlich ausfällt.
- Chemikalien und zubereitete oder bereits benutzte Reagenzien müssen gemäß den nationalen Gefahrenstoffvorschriften wie gefährlicher Abfall behandelt werden.
- Sicherheitsdatenblätter für dieses Produkt sind auf Anfrage direkt von der Firma DRG Instruments GmbH erhältlich. Die Sicherheitsdatenblätter entsprechen den EU-Verordnungen.

4 BESTANDTEILE DES KITS

4.1 Kitinhalt

1. **Microtiterwells**, 96 Wells, 12 x 8 Wells (einzeln brechbar);
Mit inaktiviertem K1S Grade Rubella Virus-Antigen beschichtet (Strain HPV-77);
(inkl. 1 Abdeckfolie)
2. **Sample Diluent** * (Probenverdünnungsmedium), 1 Fläschchen, 100 mL, gebrauchsfertig;
enthält anti-human-IgG, pH 7,2 ± 0,2;
gelb gefärbt
3. **IgG-RF-Sorbent** *, 1 Fläschchen, 6,5 mL, gebrauchsfertig;
enthält anti-human-IgG
gelb gefärbt
4. **Standard (Standard 1-3)** *, 3 Fläschchen, S1 – S3 mit 2,0 mL, gebrauchsfertig;
Konzentrationen: 75, 150, 300 DU/mL;
Standard 1, grün gefärbt, grüne Kappe;
Standard 2, blau gefärbt, blaue Kappe;
Standard 3, rot gefärbt, rote Kappe.
5. **Neg. Control** * (Negative Kontrolle), 1 Fläschchen, 2,0 mL, gebrauchsfertig;
gelb gefärbt, gelbe Kappe.
6. **Pos. Control** * (Positive Kontrolle), 1 Fläschchen, 2,0 mL, gebrauchsfertig;
violett gefärbt, schwarze Kappe.
7. **Enzyme Conjugate** * (Enzymkonjugat), 1 Fläschchen, 20 mL, gebrauchsfertig;
Antikörper gegen humanes IgM, mit Meerrettichperoxidase konjugiert;
rot gefärbt
8. **Substrate Solution** (Substratlösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
Tetramethylbenzidin (TMB).
9. **Stop Solution** (Stopplösung), 1 Fläschchen, 14 mL, gebrauchsfertig;
enthält 0,2 mol/L H₂SO₄;
Kontakt mit der Stopplösung vermeiden! Kann Hautreizungen und Verbrennungen verursachen.
10. **Wash Solution** * (Waschlösung), 1 Fläschchen, 30 mL, (**20X** konzentriert für 600 mL) pH 6,5 ± 0,1;
Siehe „Vorbereitung der Reagenzien“.

* Enthält quecksilberfreies Konservierungsmittel.

4.1.1 Nicht im Kit enthaltene aber erforderliche Geräte und Materialien

- Kalibriertes Mikrotiterplattenlesegerät mit 450 nm/620 nm-Filter
- Kalibrierte variable Präzisions-Mikropipette
- Inkubator 37 °C
- Manuelle oder automatische Waschanlage
- Vortex-Mischer
- Frisches destilliertes Wasser
- Kurzzeitwecker
- Saugfähiges Papier

4.2 Lagerung und Haltbarkeit des Kits

Die ungeöffneten Reagenzien behalten bei Lagerung um 2 °C bis 8 °C ihre Reaktivität bis zum Verfallsdatum. Nach dem Verfallsdatum die Reagenzien nicht mehr verwenden.

Nach dem Öffnen sollten alle Reagenzien bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden.

Die *Microtiterwells* sollten bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Der einmal geöffnete Folienbeutel sollte stets sehr sorgfältig wieder verschlossen werden.

Unter den beschriebenen Lagerbedingungen behalten geöffnete Kits 8 Wochen ihre Reaktivität.

4.3 Vorbereitung der Reagenzien

Alle Reagenzien sowie die benötigte Anzahl von Wells sollen vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C) gebracht werden.

Wash Solution

Waschlösung **1+19** (z.B. 10 mL + 190 mL) mit frischem, keimfreiem destilliertem Wasser verdünnen. Diese verdünnte Waschlösung hat einen pH-Wert von $7,2 \pm 0,2$.

Bedarf: ca. 5 mL pro Bestimmung.

Kristalle in der Lösung durch Erwärmen im Wasserbad bei 37 °C auflösen. Es muss sichergestellt sein, dass die Kristalle vollständig gelöst sind, bevor die Waschlösung verwendet wird.

Die verdünnte Waschlösung ist bei 2 °C bis 8 °C für 1 Woche stabil.

4.4 Entsorgung des Kits

Die Entsorgung des Kits muss gemäß den nationalen gesetzlichen Vorschriften erfolgen. Spezielle Informationen zu diesem Produkt finden Sie im Sicherheitsdatenblatt.

4.5 Beschädigte Testkits

Im Falle einer starken Beschädigung des Testkits oder der Komponenten muss die Firma DRG in schriftlicher Form spätestens eine Woche nach Erhalt des Kits informiert werden. Stark beschädigte Einzelkomponenten sollten nicht für den Testlauf verwendet werden. Sie müssen gelagert werden bis eine endgültige Lösung gefunden wurde. Danach sollten Sie gemäß den offiziellen Richtlinien entsorgt werden.

5 PROBENVORBEREITUNG

Serum oder Plasma (EDTA-, Lithium-Heparin- oder Zitratplasma) kann in diesem Test als Probenmaterial eingesetzt werden.

Generell sollte die Verwendung von hämolytischen, ikterischen oder lipämischen Proben vermieden werden. Weitere Informationen finden Sie im Kapitel „Interferenzen“.

5.1 Probenentnahme

Serum:

Blut durch Venenpunktion entnehmen (z.B. mit Sarstedt Monovette für Serum), gerinnen lassen und das Serum durch Zentrifugation bei Raumtemperatur abtrennen. Vor der Zentrifugation muss die Gerinnung vollständig abgeschlossen sein. Bei Patienten, die Antikoagulantien erhalten, kann die Gerinnungszeit länger dauern.

Plasma:

Die Blutentnahme erfolgt mit Röhrchen, die ein Antikoagulant enthalten (z.B.: Sarstedt Monovette – mit entsprechender Plasma-Präparierung). Das Plasma wird als Überstand nach einer Zentrifugation gewonnen.

5.2 Probenaufbewahrung

Proben sollten stets gut verschlossen sein und können vor Testbeginn bis zu 4 Tage bei 2 °C bis 8 °C gelagert werden. Für eine längere Aufbewahrung sollten die Proben eingefroren, bei -20 °C, bis zum Testbeginn gelagert werden. Nur einmal einfrieren. Auftaute Proben sollten vor Testbeginn vorsichtig durchmischt werden, ohne Schaumbildung.

5.3 Probenverdünnung

Vor Testbeginn werden die Patientenproben zuerst mit *Sample Diluent* verdünnt. Anschließend werden diese vorverdünnten Proben mit *IgG-RF-Sorbent* inkubiert um Rheumafaktoren zu eliminieren.

1. Jede Patientenprobe **1+50** mit *Sample Diluent* verdünnen;
z.B. 10 µL Probe + 0,5 mL *Sample Diluent*. **Gut mischen.**
2. Vor Gebrauch das *IgG-RF-Sorbent* gut mischen.
3. Die vorverdünnte Probe **1+1** mit *IgG-RF-Sorbent* verdünnen
z.B. 60 µL vorverdünnte Probe + 60 µL *IgG-RF-Sorbent*. **Gut mischen.**
4. **Mindestens 15 Minuten, bis maximal 2 Stunden bei Raumtemperatur stehen lassen und danach nochmals gut mischen.**
5. 100 µL dieser vorbehandelten Probe werden in den ELISA eingesetzt.

Achtung: Standards und Kontrollen sind gebrauchsfertig und dürfen nicht verdünnt werden!

6 TESTDURCHFÜHRUNG

6.1 Allgemeine Hinweise

- **Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien, Proben und Kontrollen vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur zu bringen!**
- Wenn die Testdurchführung einmal begonnen wurde, muss sie ohne Unterbrechung zu Ende geführt werden.
- Für jeden Standard, jede Kontrolle oder Probe eine neue Plastikspitze verwenden, um Verschleppungen zu vermeiden.
- Die Optische Dichte ist abhängig von Inkubationszeit und Temperatur. Deshalb ist es notwendig, vor Beginn der Testdurchführung alle Reagenzien in einen arbeitsbereiten Zustand zu bringen, die Deckel der Fläschchen zu öffnen, alle benötigten Wells in den Halter zu setzen. Nur eine solche Vorbereitung garantiert gleiche Zeiten für jeden Pipettiervorgang ohne Pausen.
- Als generelle Regel gilt, dass die enzymatische Reaktion linear proportional zu Zeit und Temperatur ist.
- Reagenzfläschchen sofort nach Gebrauch wieder sorgfältig verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu verhindern.
- Die Patientenproben bzw. das Konjugat sorgfältig auf den Boden der Vertiefungen pipettieren bzw. dispensieren (ohne den Rand zu benetzen!), um Kreuzkontaminationen und fälschlich erhöhte Ergebnisse zu vermeiden.
- *Microtiterwells* während der 37 °C Inkubation durch Abdecken mit Abdeckfolie vor Verdunstung schützen.

6.2 Testdurchführung

Vor Beginn der Testdurchführung die *Wash Solution* verdünnen, die **Patientenproben vorbereiten, wie unter Punkt 5.3 beschrieben** und auf dem mitgelieferten **Übersichtsplan** die Verteilung bzw. Position der Standards, Patientenproben und Kontrollen auf den Mikrotiterstreifen zur sicheren Identifizierung genau festlegen.

1. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen in den Streifenhalter einsetzen.
Hierbei mindestens

1 Vertiefung	(z.B. A1)	für die <i>Neg. Control</i>
4 Vertiefungen	(z.B. ab B1)	für die <i>Standards 1 - 3</i> und
1 Vertiefung	(z.B. F1)	für die <i>Pos. Control</i> vorsehen.

 Es bleibt dem Anwender überlassen, zur höheren Sicherheit für die Kontrollen und die Patientenproben Doppel- oder Mehrfachbestimmungen vorzusehen.
2. **100 µL *Neg. Control*** in Vertiefung A1
100 µL *Standard 1* in Vertiefung B1 + C1
100 µL *Standard 2* in Vertiefung D1
100 µL *Standard 3* in Vertiefung E1
100 µL *Pos. Control* in Vertiefung F1 und
100 µL jeder vor behandelten Patientenprobe mit neuen Plastikspitzen in die entsprechenden Wells pipettieren.
3. Die Mikrotiterstreifen mit der dem Testkit beiliegenden Folie abdecken.
60 Minuten bei 37 °C inkubieren.
4. Den Inhalt der Mikrotiterstreifen kräftig ausschütteln und **5-mal** mit verdünnter *Wash Solution* (300 µL pro Vertiefung) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Mikrotiterstreifen auf saugfähigem Papier entfernen.
Achtung: Die Sensitivität und Präzision dieses Testes wird erheblich beeinflusst von der korrekten Durchführung des Waschschrittes!
5. **100 µL *Enzyme Conjugate*** in jede Vertiefung geben.
6. **30 Minuten bei Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C)** inkubieren.
Testansatz nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen!
7. Den Inhalt der Mikrotiterstreifen kräftig ausschütteln und **5-mal** mit verdünnter *Wash Solution* (300 µL pro Vertiefung) waschen. Verbleibende Flüssigkeit durch Ausklopfen der Mikrotiterstreifen auf saugfähigem Papier entfernen.
8. **100 µL *Substrate Solution*** in jede Vertiefung geben.
9. **15 Minuten bei Raumtemperatur (20 °C bis 25 °C) im Dunkeln** inkubieren
10. Die enzymatische Reaktion durch Zugabe von **100 µL *Stop Solution*** in jede Vertiefung abstoppen.
 Während der Inkubation gebildete blaue Farbe schlägt in gelb um.
Hinweis: Hoch positive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Chromogens verursachen!
11. Die Optische Dichte bei **450 nm/620 nm** mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät innerhalb von **30 Minuten** nach Zugabe der *Stop Solution* bestimmen.

6.3 Messung

Die optische Dichte (OD) aller Vertiefungen bei 450 nm messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben in den Übersichtsplan eintragen.

Eine bichromatische Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den Mittelwert der OD berechnen.

7 ERGEBNISSE

7.1 Qualitätskontrollkriterien und Testvalidität

Die Testdurchführung ist gültig, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:

Neg. Control in A1:	OD-Wert niedriger als 0,20
Standard 1 (Cut-off) in B1 + C1:	OD-Wert zwischen 0,35 und 0,85
Standard 2 in D1:	OD-Wert zwischen 0,75 und 1,50
Standard 3 in E1:	OD-Wert zwischen 1,00 und 2,00
Pos. Control in F1:	OD-Wert zwischen 0,65 und 3,00

7.2 Messwertberechnung der quantitativen Ergebnisse

Um **quantitative Ergebnisse in DU/mL** zu erhalten, die OD-Werte der *Neg. Control* und *Standard 1, 2, 3* gegen ihre entsprechende Konzentration (0, 75, 150, 300 DU/mL) auftragen und eine Standardkurve erstellen (OD-Werte auf der vertikalen y-Achse; Konzentrationen auf der horizontalen x-Achse).

Anhand dieser Standardkurve die gemittelten OD-Werte der jeweiligen Patientenproben ablesen.

Es können alle validierten Computerprogramme verwendet werden, die folgende Funktion bieten: 4 PL (4 Parameter Logistics).

DRG verwendet das DRG Regressionsprogramm für Windows (4 Parameter Rodbard Regression).

Wird eine andere Regressionssoftware verwendet, müssen die Ergebnisse durch den Anwender validiert werden.

Achtung: Die Werte von zusätzlich (z.B. 1:10, insgesamt 1:1000) verdünnten Proben müssen nach dem Ablesen mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden! (Verdünnung 1:10; Verdünnungsfaktor: 10)

7.3 Interpretation der quantitativen Ergebnisse

Folgende Angaben gelten als Richtlinien:

NEGATIV:	< 68 DU/mL
CUT-OFF WERT:	75 DU/mL
GRAUBEREICH:	68 - 83 DU/mL
POSITIV:	> 83 DU/mL

7.4 Qualitative Testauswertung

Extinktionswert des *Standard 1 (Cut-off [CO])*

Beispiel: 0,600 = CO

7.5 Interpretation qualitativen Auswertung

NEGATIV OD-Mittelwert_{Patient} < OD_{CO} - 10 %

GRAUZONE OD_{CO} -10 % ≤ OD-Mittelwert_{Patient} ≤ OD_{CO} +10 %

Test 2 - 4 Wochen später wiederholen - mit frischer Patientenprobe. Ergebnisse im zweiten Test wieder in der Grauzone ⇒ **NEGATIV**

POSITIV OD-Mittelwert_{Patient} > OD_{CO} +10 %

8 QUALITÄTSKONTROLLE

Es wird empfohlen, die Kontrollproben gemäß den nationalen gesetzlichen Bestimmungen einzusetzen. Durch die Verwendung von Kontrollproben wird eine Tag-zu-Tag Überprüfung der Ergebnisse erzielt. Es sollten Kontrollen sowohl mit normalem als auch pathologischem Level eingesetzt werden.

Es wird ebenfalls empfohlen, an nationalen oder internationalen Qualitätssicherungs-Programmen teilzunehmen, um die Genauigkeit der Ergebnisse zu sichern.

Wenn die Ergebnisse des Testes nicht mit den angegebenen Akzeptanzbereichen des Kontrollmaterials übereinstimmen, sollten die Patientenergebnisse als ungültig eingestuft werden.

In diesem Fall überprüfen Sie bitte die folgenden Bereiche: Pipetten und Zeitnehmer, Photometer, Verfallsdatum der Reagenzien, Lagerungs- und Inkubationsbedingungen, Absaug- und Waschmethode.

Sollten Sie nach Überprüfung der vorgenannten Bereiche keinen Fehler erkannt haben, setzen Sie sich bitte mit Ihrem Lieferanten oder direkt mit der Firma DRG in Verbindung.

9 ASSAY-CHARAKTERISTIKA

9.1 Messbereich

Der Messbereich des Testes liegt zwischen 1,53 – 300 DU/mL.

9.2 Spezifität des Antigens (Kreuzreaktivität)

Es wurde keine Kreuzreaktivität zu Masern, Mumps, Varizella zoster Virus, Epstein-Barr Virus (VCA), Parvovirus B19 und Dengue-2 Virus festgestellt.

9.3 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität, definiert als Mittelwert der OD plus der zweifachen Standardabweichung der neg. Kontrolle (n = 20), beträgt 1,53 DU/mL (OD_{450nm} 0,032).

9.4 Diagnostische Spezifität

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern.

Sie beträgt 100 %. (Ermittelt durch Vergleich mit Diamed Eurogen Rubella IgM ELISA über 3 DRG Produktionschargen mit 134 Proben, davon 112 negative.)

9.5 Diagnostische Sensitivität

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern.

Sie beträgt 90.91 %. (Ermittelt durch Vergleich mit Diamed Eurogen Rubella IgM ELISA über 3 DRG Produktionschargen mit 134 Proben, davon 20 positive.)

Zusätzlicher Vergleich mit 39 positiven Proben mit NovaTec μ -capture Rubella IgM ELISA ergab eine Sensitivität von 100 %.

Die Daten zu:

9.6 Methodenvergleich

9.7 Reproduzierbarkeit (Präzision)

9.8 Wiederfindung

9.9 Linearität

entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Gebrauchsanweisung.

10 GRENZEN DES TESTES

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen.

Bei Immunsupprimierten und Neugeborenen besitzen die Ergebnisse der serologischen Tests nur einen begrenzten Wert.

10.1 Interferenzen

Hämoglobin (bis zu 4 mg/mL), Bilirubin (bis zu 0,5 mg/mL) und Triglyceride (bis zu 30 mg/mL) haben keinen Einfluss auf das Testergebnis.

11 RECHTLICHE GRUNDLAGEN

11.1 Zuverlässigkeit der Ergebnisse

Der Test muss exakt gemäß der Testanleitung des Herstellers abgearbeitet werden. Darüber hinaus muss der Benutzer sich strikt an die Regeln der GLP (Good Laboratory Practice) oder andere eventuell anzuwendende Regeln oder nationale gesetzliche Vorgaben halten. Dies betrifft besonders den Gebrauch der Kontrollreagenzien. Es ist sehr wichtig, bei der Testdurchführung stets eine ausreichende Anzahl Kontrollen zur Überprüfung der Genauigkeit und Präzision mitlaufen zu lassen.

Die Testergebnisse sind nur gültig, wenn alle Kontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen, und wenn alle anderen Testparameter die vorgegebenen Spezifikationen für diesen Assay erfüllen. Wenn Sie bezüglich eines Ergebnisses Zweifel oder Bedenken haben, setzen Sie sich bitte mit der Firma DRG in Verbindung.

11.2 Therapeutische Konsequenzen

Therapeutische Konsequenzen sollten keinesfalls nur aufgrund von Laborergebnissen erfolgen, selbst dann nicht, wenn alle Testergebnisse mit den in Punkt 11.1 genannten Voraussetzungen übereinstimmen. Jedes Laborergebnis ist nur ein Teil des klinischen Gesamtbildes eines Patienten.

Die Diagnose einer Infektionskrankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie des Patienten müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden.

Nur in Fällen, in denen die Laborergebnisse in akzeptabler Übereinstimmung mit dem allgemeinen klinischen Bild des Patienten stehen, sollten therapeutische Konsequenzen eingeleitet werden.

Das Testergebnis allein sollte niemals als alleinige Grundlage für die Einleitung therapeutischer Konsequenzen dienen.

11.3 Haftung

Jegliche Veränderungen des Testkits und/oder Austausch oder Vermischung von Komponenten unterschiedlicher Chargen von einem Testkit zu einem anderen, können die gewünschten Ergebnisse und die Gültigkeit des gesamten Tests negativ beeinflussen. Solche Veränderungen und/oder Austausch haben den Ausschluss jeglicher Ersatzansprüche zur Folge.

Reklamationen, die aufgrund von Falschinterpretation von Laborergebnissen durch den Kunden gemäß Punkt 11.2 erfolgen, sind ebenfalls abzuweisen. Im Falle jeglicher Reklamation ist die Haftung des Herstellers maximal auf den Wert des Testkits beschränkt. Jegliche Schäden, die während des Transports am Kit entstanden sind, unterliegen nicht der Haftung des Herstellers.

1 DESTINAZIONE D'USO

L'immunoassay enzimatico DRG Rubella Virus IgM fornisce materiale per la determinazione **quantitativa e qualitativa** di anticorpi della classe IgM per virus Rubella nel siero e plasma (EDTA, eparina di litio o plasma di citrato). **Questo test kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico.**

1.1 Valore Clinico

Rubella è un virus a RNA dotato di involucro appartenente ai togavirus. Ribella ha una forma sferica con circa 50-70 nm di diametro. Si conosce soltanto un tipo antigenico e non esistono reattività ad incrocio con gli alfavirus o con altri membri del gruppo dei togavirus.

I virus Ribella sono patogeni per il tratto respiratorio e vengono trasmessi soprattutto da infezione tramite goccioline. Ribella è una malattia comune in tutto il mondo con sintomi leggeri e una eruzione generalizzata. In bambini Ribella costituisce una malattia senza conseguenze, ma se avviene durante la gravidanza esiste un rischio significativo di un severo danno del feto.

Il rischio di una infezione congenitale con Ribella dipende primariamente dal mese di gravidanza nella quale l'infezione è acquisita: generalmente, circa 16 % degli bambini hanno difetti maggiori alla nascita in seguito a Ribella materna nei primi tre mesi di gravidanza. L'infezione congenitale di Ribella può causare ad una sindrome con coinvolgimento di uno o più organi, nota come embriopatia rubeolosa. In alcuni casi l'infezione è in apparente, ma risulta in un danno consequenziale degli occhi, di sordità, ritardo di crescita ed altro. L'immunità naturalmente acquisita è usualmente a lunga permanenza, ma una re-infezione è possibile dovuta a bassi livelli di anticorpi circolanti. Per l'immunizzazione si usa un vaccino contenente virus vitali.

L'infezione con Ribella può essere identificata rilevando il virus tramite PCR (prenatale), tramite inibizione della emagglutinazione (HAI), test della emolisi in gel (HiG), rilevamento di anticorpi EIA, ELISA.

Le misure degli anticorpi nel siero è importante per la determinazione dello stato immunologico. Anche una infezione primaria, anche se chiaramente manifesta, può non portare ad una immunità permanente, ma può risultare in un titer di anticorpi troppo basso da prevenire una re-infezione. Specialmente lo screening di adolescenti e donne giovani dovrebbe essere una routine mandataria nelle cure prenatali.

Rilevamento di anticorpi contro Rubella:

Età	IgM	IgG	Interpretazione
Adulto/Bambino	Positivo	Positivo o negativo	Infezione recente
Adulto/Bambino	Negativo	Positivo	Infezione precedente o vaccinazione, immune
neonato	Negativo	Positivo	Immunità materna, immunità passive per fino a sei mesi

2 PRINCIPIO DEL TEST

Il test kit **DRG Rubella Virus IgM ELISA** è un test immunologico in fase solida con enzimi ancorati.

In questo ELISA viene utilizzato un assorbente RF IgG.

L'uso di anticorpi IgG anti-umani nel sorbente RF previene i risultati falsi positivi o falsi negativi.

Per i dettagli, fare riferimento alle istruzioni per l'uso in inglese!

I campioni dei pazienti sono diluiti con il *Sample Diluent* e poi incubati con *IgG-RF-Sorbent*.

Micropozzetti come fase solida sono ricoperti con l'antigene virus Rubella (K1S grade, strain HPV-77).

Campioni pre-trattati di pazienti e **controlli pronti all'uso** sono pipettati in questi micropozzetti.

Durante l'incubazione gli anticorpi specifici contro virus Rubella di campioni positivi e dei controlli si legano agli antigeni immobilizzati. Dopo i passaggi di lavaggio per rimuovere materiali dei campioni e controlli non legati, anticorpi anti-IgM umano coniugati alla perossidasi di rafano sono aggiunti ai pozzetti.

Durante una seconda incubazione questi coniugati anti-IgM si legano in maniera specifica agli IgM anticorpi, risultando nella formazione di complessi immunologici-enzimatici.

Dopo un secondo passaggio di lavaggio per rimuovere coniugati non legati, i complessi immunologici formati (nel caso di risultati positivi) sono evidenziati dalla incubazione del substrato TMB e da conseguente sviluppo di un colore blu. Il colore blu vira nel giallo dopo l'arresto della reazione enzimatica indicatore con acido sulfidrico.

L'intensità di questo colore è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpo IgM virus Rubella-specifico nel campione del paziente. La densità ottica a 450 nm viene determinata con un spettrofotometro ELISA per micropozzetti.

3 PRECAUZIONI

- Questo kit è adatto soltanto per l'uso diagnostico in vitro. Solo per l'uso professionale.
- Si prega di usare la versione valida dell'insero del pacco a disposizione con il kit.
- Tutti i componenti del kit che contengono siero o plasma umano sono controllati e confermati negativi per la presenza di HIV I/II, HbsAg e HCV con metodi conformi alle norme FDA. Ciononostante tutti i componenti dovrebbero essere trattati come potenziali sostanze nocive nella manutenzione e nello smaltimento.
- Il contatto con la *Stop Solution* dovrebbe essere evitato perché contiene 0,2 mol/L H₂SO₄. L'acido solforico può provocare irritazioni cutanee e ustioni.
- Non pipettare con la bocca ed evitare il contatto con componenti del kit con la pelle o con le mucose.
- Nelle aree in cui il test viene utilizzato non fumare, mangiare, bere o fare uso di prodotti cosmetici.
- Nella manutenzione dei campioni o reagenti del kit portare guanti di latex monouso. La contaminazione dei reagenti o dei campioni con microbi può dare risultati falsi.
- L'utilizzo dovrebbe avvenire secondo regole che seguono le rispettive norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- Non utilizzare i reagenti dopo la scadenza indicata sul kit.
- Ogni indicazione sulla quantità indicata del protocollo del kit deve essere accuratamente seguito. Risultati ottimali possono essere ottenuti soltanto con l'uso di pipette calibrate e spettrofotometro calibrato.
- Componenti del kit con numeri di lotto diversi non devono essere combinati. È consigliabile di non utilizzare pozzetti di piastre diversi, anche se si tratta dello stesso lotto. I kit potrebbero essere stati immagazzinati o spediti a condizioni diverse, cosicché le caratteristiche di legame potrebbero divergere leggermente.
- I componenti chimici e reagenti preparati o già utilizzati devono essere trattati e smaltiti secondo le norme di sicurezza nazionali sulle sostanze nocive.
- I regolamenti di sicurezza di questo prodotto possono essere richiesti direttamente dalla ditta DRG Instruments GmbH. I regolamenti di sicurezza corrispondono alle norme EU.

4 COMPONENTI DEL KIT

4.1 Contenuto del kit

1. **Microtiterwells** (Micropozetti), 12 x 8 file (separatamente staccabili), 96 pozzetti; Pozzetti ricoperti con virus Rubella antigene (K1S grade, strain HPV-77), (include 1 fogli di copertura)
2. **Sample Diluent** * (Diluente dei campioni), 1 flacone, 100 mL, pronto all'uso; contiene anticorpi della class IgG anti-umano, pH 7,2 ± 0,2; colore giallo.
3. **IgG-RF-Sorbent** * (Assorbente IgG-RF), 1 flacone, 6,5 mL, pronto all'uso, contiene anticorpi della class IgG anti-umano; colorato giallo.
4. **Standard (Standard 1 – 3)** *, 3 flaconi, S1 – S3 á 2,0 mL, pronto all'uso; **Concentrazioni:** 75, 150, 300 DU/mL; Standard 1, colore verde, tappo verde; Standard 2, colore blu, tappo blu; Standard 3, colore rosso, tappo rosso.
5. **Neg. Control** * (Controllo negativo), 1 flacone, 2,0 mL, pronto all'uso; colore giallo, tappo giallo.
6. **Pos. Control** * (Controllo positivo), 1 flacone, 2,0 mL, pronto all'uso; colore viola, tappo nero.
7. **Enzyme Coniugate** * (Tracciante enzimatico), 1 flacone, 20 mL, pronto all'uso; anticorpo a IgM umano coniugato alla perossidasi di rafano; colore rosso
8. **Substrate Solution** (Soluzione di substrato), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso TMB (benzidine tetrametilico).
9. **Stop Solution** (Soluzione d'arresto), 1 flacone, 14 mL, pronto all'uso; contiene 0,2 mol/L H₂SO₄
Evitare il contatto con la soluzione d'arresto. Può causare irritazioni cutanee e ustioni.
10. **Wash Solution** * (Soluzione di lavaggio), 1 flacone, 30 mL (20 X concentrato per 600 mL), pH 6,5 ± 0,1 vedi „Preparazione dei reagenti“.

* Contiene conservante senza mercurio.

4.1.1 Materiali richiesti ma non contenuti nel kit

- Uno spettrofotometro calibrato per micropozzetti (450 nm/620 nm ± 10 nm)
- Micropipette di precisione variabili, calibrati
- Incubatore a 37 °C
- Materiale per il lavaggio automatico o manuale
- Agitatore vortex
- Acqua appena distillata
- Cronometro
- Carta assorbente

4.2 Magazzinaggio e stabilità del kit

A 2 °C a 8 °C i reagenti non aperti rimangono reattivi fino alla data di scadenza indicata. Non usare reagenti oltre questa data.

Tutti i reagenti aperti devono essere magazzinati a 2 °C a 8 °C. I micropozzetti devono essere magazzinati a 2 °C a 8 °C. Una volta aperti i pacchi, questi devono essere richiusi accuratamente.

Test kit aperti rimangono attivi per 8 settimane se magazzinati come descritto sopra.

4.3 Preparazione dei reagenti

Prima dell'uso portare tutti i reagenti e il numero necessario di pozzetti a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C).

Wash Solution

Diluire la *Wash Solution 1+19* (p.es. 10 mL + 190 mL) con acqua sterile distillata.

Il valore pH in base a diluizione è $7,2 \pm 0,2$.

Consumo: ~ 5 mL per determinazione.

I cristalli nella soluzione si sciolgono durante il riscaldamento a 37 °C in bagnomaria. Assicurarsi che i cristalli siano completamente dissolti prima dell'uso.

La Wash Solution diluita è stabile per 1 settimana a 2 °C a 8 °C.

4.4 Smaltimento del kit

Lo smaltimento del kit deve avvenire secondo le regole a norma di legge. Informazioni particolareggiate per questo prodotto si trovano nel regolamento di sicurezza.

4.5 Test kits danneggiati

Nel caso di gravi danneggiamenti del kit o dei suoi componenti deve avvenire una dichiarazione scritta alla ditta DRG, al più tardi una settimana dopo il ricevimento del kit. Componenti danneggiati non dovrebbero essere utilizzati per il test. Questi componenti devono essere magazzinati fino alla soluzione del problema. Dopo di che essi devono essere smaltiti secondo le norme ufficiali.

5 CAMPIONI

Siero o plasma (EDTA, eparina di litio o plasma di citrato) può essere usato per questo test.

In generale si dovrebbe evitare l'uso di campioni emolitici, itterici o lipemici. Per ulteriori informazioni consultare il capitolo "Sostanze interferenti".

5.1 Collezione dei campioni

Siero:

Collezionare sangue tramite puntura venale (p.es. Sarstedt Monovette per siero), far coagulare e separare il siero centrifugando a temperatura ambiente.

Non centrifugare prima che la coagulazione sia completata. Campioni di pazienti con una terapia anticoagulante possono richiedere più tempo per la coagulazione.

Plasma:

Il sangue dovrebbe essere collezionato in tubetti da centrifuga contenenti un anticoagulante (p. es. Sarstedt Monovette con un'adeguata preparazione per il plasma) e centrifugando immediatamente dopo la puntura.

5.2 Magazzinaggio dei campioni

I campioni dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 4 giorni a 2 °C a 8 °C prima dell'utilizzo.

Campioni magazzinati per un periodo più lungo dovrebbero essere congelati solo una volta a -20 °C prima dell'analisi. Congelare soltanto una volta. Invertire campioni scongelati alcune volte prima dell'uso.

5.3 Diluizione dei campioni

Prima dell'analisi ogni campione deve essere diluito con il Diluente dei campioni (*Sample Diluent*). Per assicurare l'assorbimento di fattori reumatici, questi campioni pre-diluiti devono essere incubati con l'assorbente IgG RF (*IgG-RF-Sorbent*).

1. Diluire ogni campione dei pazienti **1 + 50** con il *Sample Diluent*; p.es. 10 µL di campione + 0,5 mL del *Sample Diluent*. **Agitare bene.**
2. Agitare bene IgG-RF-Sorbent prima dell'uso.
3. Diluire questi campioni pre-diluiti **1 + 1** con *IgG-RF-Sorbent* p.es. 60 µL campione prediluito + 60 µL *IgG-RF-Sorbent*. **Agitare bene**
4. **Lasciare riposare a temperatura ambiente per almeno 15 minuti, fino ad un massimo di 2 ore e mescolare bene.**
5. Prendere 100 µL di questi campioni pretrattati per l'ELISA.

Nota bene: Standard e Controlli sono pronti all'uso e non devono essere diluiti!

6 ATTUAZIONE DEL TEST

6.1 Indicazioni generali

- **È molto importante portare tutti i reagenti, campioni e controlli a temperatura ambiente prima dell'esecuzione del test!**
- Una volta iniziato il procedimento del test, questo deve essere portato alla fine senza interruzione.
- Per ogni componente, standard, controllo o campione è necessario utilizzare una nuova punta monouso per evitare reazioni incrociate.
- La densità ottica dipende dal tempo d'incubazione e dalla temperatura. Perciò si rende necessario di preparare tutti i reagenti, di aprire i tappi dei flaconi e di appostare tutti i pozzetti nelle appropriate posizioni. Soltanto una tale preparazione garantisce gli stessi tempi per ogni processo di pipettamento.
- Come regola generale vale che la reazione enzimatica si svolge linearmente proporzionale con il tempo e con la temperatura.
- Chiudere bene i flaconi dei reagenti immediatamente dopo l'uso per evitare l'evaporazione e la contaminazione microbica.
- Per evitare contaminazioni incrociate e risultati falsi pipettare i campioni e il tracciante sul fondo del pozzetto.
- Durante l'incubazione coprire i pozzetti per evitare l'evaporazione.

6.2 Esecuzione del test

Prima d'iniziare con il test **i campioni dei pazienti da preparare com'è descritto del punto 5.3** e diluire la *Wash Solution* e si dovrebbe eseguire un piano di distribuzione ed identificazione per tutti gli standard, campioni e controlli sul prestampato fornito nel kit.

1. Selezionare il numero richiesto di strips o pozzetti e inserirli sul sostegno.
Si prega di collocare almeno:

1 pozzetto (p.es. A1)	per il <i>Neg. Control</i>	
4 pozzetti (p.es. B1-E1)	per il <i>Standard</i>	e
1 pozzetto (p.es. F1)	per il <i>Pos. Control</i> .	

È lasciato all'operator di determinare i controlli e i campioni in doppio.
2. Aggiungere

100 µL del <i>Neg. Control</i>	nei pozzetto A1
100 µL of <i>Standard 1</i>	nei pozzetto B1 + C1
100 µL of <i>Standard 2</i>	nei pozzetto D1
100 µL of <i>Standard 3</i>	nei pozzetto E1
100 µL of <i>Pos. Control</i>	nei pozzetto F1 e
100 µL di ogni campione p r e t r a t t a t i	<u>con una nuova punta</u> nei rispettivi pozzetti.
3. Coprire i pozzetti con la foglia fornita nel kit. Incubare per **60 minuti a 37 °C**
4. Rovesciare la piastra per vuotare i pozzetti. Lavare i pozzetti **5 volte** con *Wash Solution* diluita (**300 µL in ogni pozzetto**). Rimuovere le gocce d'acqua rimanenti rivoltando la piastra su carta assorbente.
Importante: La sensibilità e la precisazione di questo kit sono fortemente influenzate dal corretto esecuzione del lavaggio!
5. Aggiungere **100 µL** del *Enzyme Conjugate* in ogni pozzetto.
6. Incubare per **30 minuti a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C)**.
Non esporre alla luce solare diretta!
7. Rovesciare la piastra per vuotare i pozzetti. Lavare i pozzetti **5 volte** con *Wash Solution* diluita (300 µL in ogni pozzetto). Rimuovere le gocce d'acqua rimanenti rivoltando la piastra su carta assorbente.
8. Aggiungere **100 µL** di *Substrate Solution* in ogni pozzetti.
9. Incubare per **15 minuti esattamente a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) al buio**.
10. Fermare la reazione enzimatica aggiungendo **100 µL** della *Stop Solution* in ogni pozzetto.
Il colore blu sviluppato vira al giallo.
Nota: Nei campioni fortemente positivi si può formare un precipitato scuro del cromogeno!
11. Determinare la densità ottica a **450 nm/620 nm** con un fotometro **entro 30 minuti** dopo l'aggiunta della *Stop Solution*.

6.3 Misure fotometriche

Misurare la densità ottica (DO) di tutti i pozzetti **a 450 nm** e riportare i valori di tutti i campioni e controlli del piano di distribuzione ed identificazione.

Determinazione a doppio raggio usando 620 nm come lunghezza d'onda di riferimento è raccomandabile.

Dove possibile calcolare **il valore medio die valori die DO** per tutti i campioni in doppio.

7 RESULTATI

7.1 Convalidazione del test

Il test può essere considerato valido se i seguenti criteri sono realizzati:

Neg. Control in A1:	Valore della DO inferiore a 0.20
Standard 1 (valore limite) in B1 + C1:	Valore della DO tra 0.35 - 0.85
Standard 2 in D1:	Valore della DO tra 0.75 - 1.50
Standard 3 in E1:	Valore della DO tra 1.00 – 2.00
Pos. Control in F1:	Valore della DO tra 0.65 – 3.00

7.2 Calcolo dei risultati quantitativi

Per ottenere risultati quantitativi in DU/mL, rappresentare graficamente i valori (medi) di DO dei *Neg. Control* e *Standard 1, 2, 3* su carta a scala lineare contro le loro corrispondenti concentrazioni (0, 75, 150, 300 DU/mL) e costruire una curva di calibrazione standard (valori di DO sull'ordinata y, concentrazioni sull'ascisse x).

Leggere i risultati per interpolazioni con la curva standard usando i valori (medi) di assorbanza di ciascun campione di paziente e dei controlli.

È possibile utilizzare tutti i programmi per computer validati che offrono la seguente funzione: 4 PL (4 parametri logistici).

DRG usa il programma di regressione per Windows (regressione Rodbard a 4 parametri).

In caso che un'altra software viene usata, l'utente deve validare i propri risultati.

Attenzione: I valori di campioni ulteriormente diluiti (p.es. 1:10, complessivamente 1:1000) devono essere moltiplicati dopo la misura con il corrispondente fattore di diluizione! (Diluizione 1:10; fattore di diluizione: 10)

7.3 Interpretazione quantitativa dei risultati.

I seguenti valori possono essere usati come direttiva:

NEGATIVO:	< 68 DU/mL
VALORE DI SOGLIA:	75 DU/mL
ZONA GRIGIA:	68 – 83 DU/mL
POSITIVO	> 83 DU/mL

7.4 Calcolo dei risultati qualitativi

Valori di assorbanza dello **Standard 1 (valore limite) = CO**

Esempio: 0,600 = CO

7.5 Interpretazione

NEGATIVO **Media DO_{paziente} < DO_{CO} - 10 %**

ZONA GRIGIA **DO_{CO} -10 % ≤ Media DO_{paziente} ≤ DO_{CO} +10 %**

Ripetere il test 2-4 settimane dopo - con nuovi campioni dei pazienti.

Risultati del secondo test nuovamente nella zona grigia ⇒ **NEGATIVO**

POSITIVO **Media DO_{paziente} > DO_{CO} + 10 %**

8 CONTROLLO QUALITÀ

È consigliabile utilizzare i campioni controllo secondo le norme di legge.

Attraverso l'utilizzo dei campioni controllo si può raggiungere una verifica dei risultati giorno per giorno.

Dovrebbero essere adoperati campioni controllo sia con un livello normale sia con uno patologico.

È consigliabile di utilizzare programmi di valutazione di qualità nazionali o internazionali per assicurarsi la precisione dei risultati.

Se i risultati del test non entrano nel campo dei controlli stabiliti, i risultati dei campioni dei pazienti dovrebbero essere considerati invalidi.

In questo caso si prega di controllare i seguenti parametri tecnici: calibrazione delle micropipette e dei cronometri; spettrofotometro, date di scadenze dei reagenti, magazzinaggio e condizione di incubazione, metodi di aspirazione e di lavaggio.

Se dopo il controllo dei suddetti fattori non è rilevabile alcun errore, si prega di contattare il fornitore o direttamente la ditta DRG.

9 CARATTERISTICHE DEL TEST

9.1 Assay Dynamic Range

Le concentrazioni determinabili con questo test stanno tra 1,53 – 300 DU/mL.

9.2 Specificità degli antigeni (reazioni ad incrocio)

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.3 Sensitività analitica

La sensitività analitica è stata calcolata dal valore medio della DO più due deviazioni standard di venti (20) repliche dello *Neg. Control* ed erano 1,53 DU/mL.

9.4 Specificità diagnostica

La specificità diagnostica è definita come la probabilità del test di dare risultati negativi con l'assenza del reagente analitico. È 100 %.

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

9.5 Sensitività diagnostica

La sensitività diagnostica è definita come la probabilità del test di dare risultati positivi con la presenza del reagente specifico.

È 90.91 % (Rispetto a Diamed Eurogen)

È 100 % (Rispetto a NovaTec)

Per dettagli più precisi consultare la metodica in inglese.

Dati dettagliati su

9.6 Comparazione metodica

9.7 Precisione

9.8 Ritrovato

9.9 Linearità

si prega di consultare le dettagliate istruzioni per l'uso in inglese.

10 LIMITAZIONI

Contaminazioni batteriche o ripetuti cicli di congelamento e scongelamento dei campioni possono influenzare i valori di assorbanza.

Per pazienti immunosoppressi e per neonati i dati sierologici hanno una validità ristretta.

10.1 Sostanze interferenti

Emoglobina (fino a 4 mg/mL), bilirubina (fino a 0,5 mg/mL) e trigliceridi (fino a 30 mg/mL) non influenzano i risultati di questo test.

11 ASPETTI LEGALI

11.1 Affidabilità dei risultati

Il test deve essere eseguito esattamente secondo il protocollo dato dal produttore. Inoltre l'utente deve seguire le regole del GLP (Good Laboratory Practice) o eventualmente altre regole comportamentali o disposizioni legali. Questo vale soprattutto per l'uso delle referenze. È molto importante utilizzare un numero appropriato di referenze in parallelo ai campioni test per poter controllare l'esattezza e la precisione del test.

I risultati del test sono validi soltanto se tutte le referenze cadono nei margini prestabiliti e se tutti gli altri parametri del test soddisfano la specificazione per questo test. Se esistono dubbi o domande su questi risultati, si prega di contattare la ditta DRG.

11.2 Conseguenze terapeutiche

Soltanto sulla base dei risultati dei laboratori non dovrebbero essere intraprese delle conseguenze terapeutiche di alcun tipo, anche se i risultati del test sono d'accordo con gli aspetti articolati nel punto 11.1.

La diagnosi di una malattia infettiva non dovrebbe essere fondata sulla base di un solo risultato del test. La diagnosi precisa dovrebbe considerare la storia clinica, la simptomatologia e i dati sierologici.

Ogni risultato di laboratorio è soltanto una parte di un quadro clinico completo di un paziente.

Soltanto in casi in cui i risultati di un test del laboratorio si accordano con il quadro clinico dell'ammalato, si possono intraprendere delle conseguenze terapeutiche.

Il risultato del test da solo non è base sufficiente per lo stabilimento di una terapia.

11.3 Responsabilità legali

Ogni cambiamento del protocollo del test e/o lo scambio o il mescolamento di componenti provenienti da cariche diverse possono influenzare negativamente i risultati e compromettere la validità del test. Questi cambiamenti e/o scambi annullano ogni diritto al risarcimento.













Si respingano inoltre tutti i richiami risultanti da interpretazioni sbagliate da parte dell'utente secondo il paragrafo 11.2.

Nel caso di reclamazione, la garanzia del produttore è limitato al valore massimo del test kit. Ogni danno provocato durante il trasporto del kit non sottostà alla responsabilità del produttore.




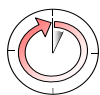




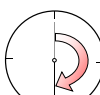







12 REFERENCES / LITERATURE / LITERATUR / BIBLIOGRAFIA

1. Reef Se., Frey Tk., Theall K., Aabernathy E., Burnett Cl., Icenogl J., McCauley Mm., Wharton M. The changing epidemiology of rubella in the 1990s: on the verge of elimination and new challenges for control and prevention. JAMA. 2002 Jan 23-30;287(4):464-72.
2. Mezzasoma L Bacarese-Hamilton T., Di Christina M., Rossi R. Bistoni F., Crisanti A. Antigen microarrays for serodiagnosis of infectious diseases. Clin Chem. 2002 Jan;48(1):121-30.
3. Cooper Lz. Current lessons from 20th century serosurveillance data on rubella. Clin Infect Dis. 2001 Oct 15;33(8):1287.

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitätskennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico in vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number *	Artikelnummer *	No. di Cat.	No de catálogo	Référence
	Batch code *	Fertigungslosnummer, Charge *	Lotto no	Número de lote	No. de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen *	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservación	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Data di scadenza	Fecha de caducidad	Date limite d'utilisation
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Biological risks*	Biologische Risiken*	Rischi biologici	Riesgos biológicos	Risques biologiques
	Caution *	Achtung *	Attenzione	Precaución	Attention
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Conditionnement
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen / Anzahl	Volume / Quantità	Volumen / Número	Volume / Quantité
<i>Microtiterwells</i>	Microtiterwells	Mikrotiterwells	Micropozzetti	Placas multipocillo	Plaques de micro-titration
<i>Enzyme Conjugate</i>	Enzyme Conjugate	Enzymkonjugat	Tracciante enzimatico	Conjugado enzimático	Conjugué enzymatique
<i>Substrate Solution</i>	Substrate Solution	Substratlösung	Soluzione di substrato	Solución de sustrato	Solution substrat
<i>Stop Solution</i>	Stop Solution	Stopplösung	Soluzione d'arresto	Solución de parada	Solution d'arrêt
<i>Zero Standard</i>	Zero Standard	Nullstandard	Standard zero	Estándar 0	Standard 0
<i>Standard</i>	Standard	Standard	Standard	Estándar	Standard
<i>Control</i>	Control	Kontrolle	Controllo	Control	Contrôle
<i>Pos. Control</i>	Positive Control	Positive Kontrolle	Controllo positivo	Control positivo	Positif Contrôle
<i>Neg. Control</i>	Negative Control	Negative Kontrolle	Controllo negativo	Control negativo	Négatif Contrôle
<i>Cut-off Control</i>	Cut-off Control	Grenzwert-Kontrolle	Controllo valore limite	Control valor limite	Valeur limite Contrôle
<i>Wash Solution</i>	Wash Solution	Waschlösung	Soluzione di lavaggio	Solución de lavado	Solution de lavage
<i>IgG-RF Sorbent</i>	Rheumatoid factor absorbent	Rheumafaktor-Absorbens	Assorbente IgG RF		
<i>Sample Diluent</i>	Sample Diluent	Probenverdünnungs-medium	Diluyente dei campioni	Solución para dilución de la muestra	Solution pour dilution de l'échantillon
<i>Conjugate Diluent</i>	Conjugate Diluent	Konjugatverdünnungs-medium	Diluyente del tracciante	Solución para dilución del conjugado	Solution pour dilution du conjugué

SHORT INSTRUCTIONS FOR USE

	<p>All reagents and specimens must be allowed to come to room temperature (18 °C - 25 °C) before use.</p>
	<p>Dispense 100 µL of Standards and Control into appropriate wells.</p>
	<p>Dispense 100 µL of sample into selected wells. (Please note special sample treatment, point 5.3!)</p>
	<p>Cover wells with foil. Incubate for 60 minutes at 37 °C</p>
	<p>Briskly shake out the contents of the wells.</p>
	<p>Rinse the wells 5 times with diluted Wash Solution (300 µL per well).</p>
	<p>Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.</p>
	<p>Dispense 100 µL of Enzyme-Conjugate into each well.</p>
	<p>Incubate for 30 minutes at room temperature.</p>
	<p>Briskly shake out the contents of the wells.</p>
	<p>Rinse the wells 5 times with diluted Wash Solution (300 µL per well).</p>
	<p>Strike the wells sharply on absorbent paper to remove residual droplets.</p>
	<p>Add 100 µL of Substrate Solution to each well.</p>
	<p>Incubate for 15 minutes at room temperature.</p>
	<p>Stop the reaction by adding 100 µL of Stop Solution to each well.</p>
	<p>Determine the optical density of each well at 450 nm.</p>