



NovaLisa™

Rubella Virus

IgG – ELISA

CE 0483

Enzyme immunoassay for the quantitative determination of IgG-class antibodies against Rubella Virus in human serum or plasma

Enzymimmunoassay zur quantitativen immunenzymatischen Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen Rubellaviren in Humanserum oder Plasma

Enzyme immunoassay pour la détermination quantitative des anticorps IgG contre virus de la Rubéole en sérum humain ou plasma

Test immunoenzimatico per la determinazione quantitativa degli anticorpi della classe IgG per Rubivirus nel siero o plasma umano

Enzimoinmunoensayo para la determinación cuantitativa de los anticuerpos IgG contra Rubellavirus en suero o plasma humano

Only for in-vitro diagnostic use

English:	Page	2 to 6
Deutsch:	Seite	7 bis 12
Français:	Page	13 à 18
Italiano:	da Pagina	19 a 23
Espanol:	Página	24 a 28

For further languages please contact our authorized distributors.

Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografia	Page / Seite / Page / Pagina / Página	30
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des symboles / Legenda / Símbolos	Page / Seite / Page / Pagina / Página	31
Summary of Test Procedure/ Kurzanleitung Testdurchführung/ Résumé de la procédure de test/ Schema della procedura/ Resumen de la técnica	Page / Seite / Page/ / Pagina / Página	32

Product number: RUBG0400 (96 Determinations)

1. INTRODUCTION

Rubella is an enveloped RNA virus belonging to the toga viruses. 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 alpha viruses or other members of the toga virus 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 foetus.

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 embryopathia 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.

Species	Disease	Symptoms	Mechanism of infection
Rubella Virus	acquired rubella (German measles)	generalized rash (fever, nausea)	Transmission by close person-to-person contact, spread most probably by droplets via the respiratory tract
	congenital rubella syndrome (Embryopathia rubeolosa)	Cardiovascular lesions, eye defects, hearing impairment, CNS involvement and others	foetal infection: transmission by haematogenous spread during maternal viremia

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

2. INTENDED USE

The NovaTec Rubella virus IgG-ELISA is intended for the quantitative determination of IgG class antibodies against Rubella virus in human serum or plasma (citrate).

3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The quantitative immunoenzymatic determination of IgG-class antibodies against Rubella Virus is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microtiter strip wells are precoated with Rubella Virus antigens to bind corresponding antibodies of the specimen. After washing the wells to remove all unbound sample material horseradish peroxidase (HRP) labelled anti-human IgG conjugate is added. This conjugate binds to the captured Rubella-specific antibodies. The immune complex formed by the bound conjugate is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is proportional to the amount of Rubella specific IgG antibodies in the specimen. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

4. MATERIALS

4.1. Reagents supplied

- **Rubella Virus Coated Wells (IgG):** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with Rubella Virus antigen; in resealable aluminium foil.
- **IgG Sample Diluent ***:** 1 bottle containing 100 ml of buffer for sample dilution; pH 7.2 ± 0.2, coloured yellow; ready to use; white cap.
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 ml sulphuric acid, 0.2 mol/l; ready to use; red cap.
- **Washing Solution (20x conc.):*** 1 bottle containing 50 ml of a 20-fold concentrated buffer for washing the wells; pH 7.2 ± 0.2; white cap.
- **Rubella Virus anti-IgG Conjugate**:** 1 bottle containing 20 ml of peroxidase labelled antibodies to human IgG; coloured blue; ready to use; black cap.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 ml 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB); ready to use; yellow cap.

- **Rubella Virus IgG Standards***:** 4 vials, each containing 2 ml; coloured yellow; ready to use:

Standard A:	0	IU/ml; blue cap
Standard B:	10	IU/ml; green cap
Standard C:	50	IU/ml; yellow cap
Standard D:	100	IU/ml; red cap

* contains 0.1 % Bronidox L after dilution

** contains 0.2 % Bronidox L

*** contains 0.1 % Kathon

4.2. Materials supplied

- 1 Strip holder
- 1 Cover foil
- 1 Test protocol
- 1 distribution and identification plan

4.3. Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450/620 nm
- Incubator 37°C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µl
- Vortex tube mixer
- Deionised or (freshly) distilled water
- Disposable tubes
- Timer

5. STABILITY AND STORAGE

The reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C.

6. REAGENT PREPARATION

It is very important to bring all reagents, samples and standards to room temperature (20...25°C) before starting the test run!

6.1. Coated Snap-off Strips

The ready to use breakapart snap-off strips are coated with Rubella Virus antigen. Store at 2...8°C. *Immediately after removal of strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C; stability until expiry date.*

6.2. Rubella Virus anti-IgG Conjugate

The bottle contains 20 ml of a solution with anti-human IgG horseradish peroxidase, buffer, stabilizers, preservatives and an inert blue dye. The solution is ready to use. Store at 2...8°C. *After first opening stability until expiry date when stored at 2...8°C.*

6.3. Standards

The vials labelled with Standard A, B, C and D contain a ready to use standard solution calibrated in accordance with the International Standard of the WHO. The concentration of the standards are:

Standard A: 0 IU/ml

Standard B: 10 IU/ml

Standard C: 50 IU/ml

Standard D: 100 IU/ml

The solutions have to be stored at 2...8°C and contain 0.1% Kathon. *After first opening stability until expiry date when stored at 2...8°C.*

6.4. IgG Sample Diluent

The bottle contains 100 ml phosphate buffer, stabilizers, preservatives and an inert yellow dye. It is used for the dilution of the patient specimen. This ready to use solution has to be stored at 2... 8°C. *After first opening stability until expiry date when stored at 2...8°C.*

6.5. Washing solution (20xconc.)

The bottle contains 50 ml of a concentrated buffer, detergents and preservatives. Dilute washing solution 1+19; e.g. 10 ml washing solution + 190 ml fresh and germ free redistilled water. The diluted buffer will keep for 5 days if stored at room temperature. *Crystals in the solution disappear by warming up to 37 °C in a water bath. After first opening the concentrate is stable until the expiry date.*

6.6. TMB Substrate Solution

The bottle contains 15 ml of a tetramethylbenzidine/hydrogen peroxide system. The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8°C, away from the light. *The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away. After first opening stability until expiry date when stored at 2...8°C.*

6.7. Stop Solution

The bottle contains 15 ml 0.2 M sulphuric acid solution (R 36/38, S 26). This ready to use solution has to be stored at 2 ... 8°C.
After first opening stability until expiry date.

7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Use human serum or plasma (citrate) samples with this assay. If the assay is performed within 5 days after sample collection, the specimen should be kept at 2...8°C; otherwise they should be aliquoted and stored deep-frozen (-20 to -70°C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. *Avoid repeated freezing and thawing.*
Heat inactivation of samples is not recommended.

7.1. Sample Dilution

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with IgG Sample Diluent. Dispense 10µl sample and 1 ml IgG Sample Diluent into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex. *Standards are ready to use and must not be diluted.*

For patients with expected concentrations greater than Standard D (100 IU/ml) a second 1 + 10 dilution of this 1 + 100 diluted patient sample should be performed; e.g. 20 µl of first sample dilution + 200 µl of IgG sample diluent (mix well). Dilution factor: 11

8. ASSAY PROCEDURE

8.1. Test Preparation

Please read the test protocol carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the test protocol as described. The following test procedure is only validated for manual procedure. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend to increase the washing steps from three to five and the volume of washing solution from 300µl to 350µl to avoid washing effects. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and controls should be carefully established on the result sheet supplied in the kit. 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 substrate blank,
4 wells (e.g. B1, C1, etc.) for Standard A, B, C and D.

It is recommended to determine patient samples in duplicate.

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each control and sample.

Adjust the incubator to 37° ± 1°C.

1. Dispense 100µl of each Standard (A, B, C and D) and diluted samples into the respective wells. Leave well A1 for substrate blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour ± 5 min at 37±1°C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content off the wells and wash each well five times with 300µl of washing solution. Avoid overflows from the reaction wells. The soak time between each wash cycle should be >5 sec. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step!

Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.

5. Dispense 100µl Rubella Virus anti-IgG Conjugate into all wells except for the blank well (e.g. A1). Cover with foil.
6. **Incubate for 30 min at room temperature (20...25°C). Do not expose to direct sunlight.**
7. Repeat step 4.
8. Dispense 100µl TMB Substrate Solution into all wells
9. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25°C) in the dark.**
10. Dispense 100µl Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution.
Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.

Note: Highly positive patient samples can cause dark precipitates of the chromogen! These precipitates have an influence when reading the optical density. Predilution of the sample - as described under 7.1. Sample Dilution - is recommended.

11. Measure the absorbance of the specimen at 450/620 nm within 30 min after addition of the Stop Solution.

8.2. Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader to zero using the substrate blank in well A1.

If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the substrate blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

Measure the absorbance of all wells at 450 nm and record the absorbance 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 absorbance values of all duplicates.

9. RESULTS

9.1. Assay Validation Criteria

In order for an assay to be considered valid, the following criteria must be met:

- **Substrate blank** in A1: Absorbance value **lower than 0.100**.
- **Standard A** in B1: Absorbance < **0.200**
- **Standard B** in C1: Absorbance > **0.200**
- **Standard C** in D1: Absorbance > **0.700**
- **Standard D** in E1: Absorbance > **1.100**

Standard A < Standard B < Standard C < Standard D

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

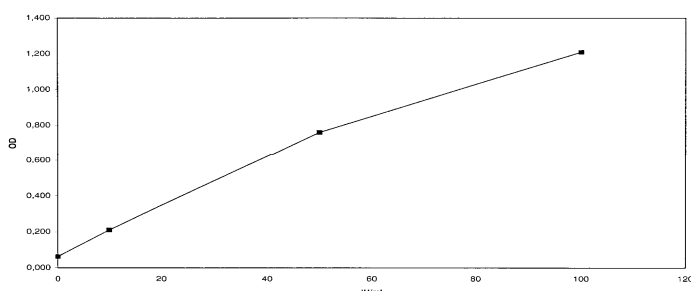
9.2. Calculation of Results

In order to obtain **quantitative results in IU/ml** plot the (mean) absorbance values of the 4 Standards A, B, C and D on (linear/linear) graph paper in a system of coordinates against their corresponding concentrations (0, 10, 50 and 100 IU/ml) and draw a standard calibration curve (absorbance values on the vertical y-axis, concentrations on the horizontal x-axis).

Read results from this standard curve employing the (mean) absorbance values of each patient specimen and control.

NOTE: Readings of additionally (1+10) diluted patient samples must be multiplied by the appropriate dilution factor in order to obtain correct results! (Dilution: 1+10 = Dilution factor: 11). (See chapter "Sample Dilution, 7.1.").

9.3. Typical Calibration Curve



9.4. Interpretation of Results

Normal value ranges for this ELISA should be established by each laboratory based on its own patient populations in the geographical areas serviced.

The following values should be considered as a guideline:

Reactive > 15 IU/ml

Grey zone (equivocal): 10 - 15 IU/ml

Non reactive: < 10 IU/ml

10. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

10.1. Precision

Intraassay	n	Mean value	CV (%)
Standard B	6	0.54	7.9
Standard C	6	1.73	3.4
Standard D	6	2.34	2.5
Interassay	n	Mean value	CV (%)
Standard B	8	0.50	7.6
Standard C	6	1.64	4.6
Standard D	6	2.19	6.3

10.2. Diagnostic Specificity

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. It is >98 %.

10.3. Diagnostic Sensitivity

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. It is >98 %.

10.4. Analytical Sensitivity

The analytical sensitivity – defined as the apparent concentration of the analyte that can be distinguished from the zero calibrator – is 1.0 IU/ml.

10.5. Interferences

Interferences with hemolytic, lipemic or icteric sera are not observed up to a concentration of 10 mg/ml hemoglobin, 5 mg/ml triglycerides and 0.5 mg/ml bilirubin.

Note: The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

11. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the absorbance values. 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.

In immunocompromized patients and newborns serological data only have restricted value.

12. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of the in vitro diagnostic medical devices is intended by the manufacturer to secure suitability, performances and safety of the product. Therefore the test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive. Nevertheless, all materials should still be regarded and handled as potentially infectious.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense conjugate without splashing accurately to the bottom of wells.
- The NovaLisa™ ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.

WARNING: In the used concentration Bronidox L has hardly any toxicological risk upon contact with skin and mucous membranes!

WARNING: Sulphuric acid irritates eyes and skin. Keep out of the reach of children. Upon contact with the eyes, rinse thoroughly with water and consult a doctor!

12.1. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

13. ORDERING INFORMATION

Prod. No.: RUBG0400 Rubella Virus IgG-ELISA (96 Determinations)

1. EINLEITUNG

Das Rubellavirus ist ein umhülltes Einzelstrang RNS Virus, das zur Gruppe der Togaviren gehört. Es hat eine sphärische Form und misst etwa 50-70 nm im Durchmesser. Es scheint nur ein Antigen-Typ zu existieren und Kreuzreaktionen mit Alphaviren oder anderen Togaviren wurden nicht gefunden. Rubellaviren sind Pathogene des Respirationstraktes. Die Infektion wird hauptsächlich durch Tröpfchen übertragen. Röteln sind eine weltweit verbreitete, ansteckende Erkrankung mit mäßigen Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens und einem generalisierten Exanthem. Im Kindesalter handelt es sich um eine folgenlose Erkrankung, aber wenn sie während der Schwangerschaft auftritt, besteht ein signifikantes Risiko einer schweren Schädigung des Foetus.

Das Risiko der congenitalen Rötelninfektion hängt in erster Linie vom Schwangerschaftsmonat ab, in dem die Infektion stattfindet: insgesamt haben ca. 16% der Kinder schwere Defekte bei der Geburt, deren Mutter in den ersten 3 Monaten der Schwangerschaft eine Rötelninfektion hatte. Eine congenitale Rötelninfektion kann zu Schäden einzelner oder multipler Organe führen, bekannt als Embriopathia rubeolosa. In manchen Fällen ist die Infektion inapparent, führt aber dennoch zur Schädigungen der Augen, Taubheit, Wachstumsstörungen und anderem. Eine natürlich erworbene Immunität hält normalerweise lebenslang an, aber eine Reinfektion aufgrund eines sinkenden Niveaus zirkulierender Antikörper ist möglich. Für die Impfung wird eine Lebendimpfstoff verwendet.

Spezies	Erkrankung	Symptome	Infektionsmodus
Rubella-virus	Röteln	Allgemeine Rötung (Fieber, Übelkeit)	Tröpfcheninfektion
	Röteln-Embryopathie	Cardiovaskuläre Schäden, Schädigung der Augen und des Gehörs, Beeinträchtigung des ZNS und anderes	Fötale Infektion: Übertragung des Virus durch mütterliches, infiziertes Blut

Nachweis

- Nachweis der Virus-RNS mittels RT-PCR
- Nachweis spezifischer Antikörper mittels Hämagglutinations-Hemmtest oder ELISA

2. VERWENDUNGSZWECK

Der NovaTec Rubellavirus IgG-ELISA ist für den quantitativen Nachweis spezifischer IgG-Antikörper gegen Rubellavirus in humanem Serum oder Plasma (Citrät) bestimmt.

3. TESTPRINZIP

Die quantitative immunenzymatische Bestimmung von spezifischem IgG gegen Rubellavirus beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)-Technik.

Mikrotiterstreifen als solide Phase sind beschichtet mit inaktiviertem Rubellavirus (Toxoid) Antigenen. Vorhandene spezifische Antikörper in der Probe binden an die immobilisierten Antigene der Mikrotiterplatte. Meerrettich-Peroxidase (HRP) -konjugierte anti-human-IgG Antikörper binden an Antigen-Antikörperkomplexe in positiven Proben. Die entstandenen Immunkomplexe werden durch Blaufärbung nach Inkubation mit Tetramethylbenzidin (TMB)-Substratlösung nachgewiesen. Stoppen der enzymatischen Reaktion mit Schwefelsäure führt zu einem Farbumschlag von blau zu gelb, der einfach nachgewiesen und mit einem ELISA-Reader bei 450 nm gemessen werden kann.

4. MATERIALIEN

4.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Rubellavirus beschichtete Mikrotiterstreifen (IgG):** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit Rubellavirus Antigenen; in wiederverschließbarem Aluminiumbeutel.
- **IgG-Probenverdünnungspuffer***:** 1 Flasche mit 100 ml Puffer zur Probenverdünnung; pH 7.2 ± 0.2; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe.
- **Stopplösung:** 1 Flasche mit 15 ml Schwefelsäure, 0.2 mol/l, gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **Waschlösung (20x konz.):*** 1 Flasche mit 50 ml eines 20-fach konzentrierten Puffers zum Waschen der Kavitäten; pH 7.2 ± 0.2; weiße Verschlusskappe.
- **Rubellavirus anti-IgG-Konjugat**:** 1 Flasche mit 20 ml Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen humanes IgG; blau gefärbt; gebrauchsfertig. schwarze Verschlusskappe.
- **TMB-Substratlösung:** 1 Flasche mit 15 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB); gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe.
- **Rubellavirus IgG Standards***:** 4 Fläschchen, je 2 ml, gelb gefärbt, gebrauchsfertig.:
Standard A: 0 IU/ml; blaue Verschlusskappe
Standard B: 10 IU/ml; grüne Verschlusskappe
Standard C: 50 IU/ml; gelbe Verschlusskappe
Standard D: 100 IU/ml; rote Verschlusskappe

* enthält 0.1 % Bronidox L nach Verdünnung

** enthält 0.2 % Bronidox L

*** enthält 0.1 % Kathon

4.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Rahmenhalter
- 1 Arbeitsanleitung
- 1 Ergebnisblatt

4.3. Erforderliche Materialien und Geräte

- Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Feuchtkammer/Brutschrank mit Thermostat
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten mit Einmalspitzen (10, 100, 200, 1000 µl)
- Vortex-Mischer
- Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch
- Röhrchen-Ständer
- Aqua dest.
- Timer

5. STABILITÄT UND LAGERUNG

Testkit bei 2...8°C lagern. Die Reagenzien nicht nach den angegebenen Verfallsdaten verwenden. Die Verfallsdaten sind jeweils auf den Flaschenetiketten und auf dem Außenetikett angegeben.

6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Alle Reagenzien, Proben und Kontrollen sind vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur(20...25°C) zu bringen!

6.1. Beschichtete Streifen

Die abbrechbaren Streifen sind mit inaktiviertem Rubellavirus Antigen beschichtet. Die gebrauchsfertigen Vertiefungen sind bei 2...8°C aufzubewahren. *Nichtverbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8°C lagern. Haltbarkeit bis zum angegebenen Verfallsdatum.*

6.2. Rubellavirus anti-IgG Konjugat

Das Fläschchen enthält 20 ml einer Lösung von anti-human IgG-Meerrettichperoxidase, Puffer, Stabilisatoren, Konservierungsmittel und einen inerten blauen Farbstoff. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

6.3. Standards

Die Fläschchen mit Nullstandard A und Standards B, C und D enthalten 2,0 ml gebrauchsfertige Standardlösung.

Die Konzentrationen der Standards, nach dem Int. Standard der WHO von 1994 standardisiert, sind:

Standard A: 0 IU/ml

Standard B: 10 IU/ml

Standard C: 50 IU/ml

Standard D: 100 IU/ml

Die gebrauchsfertigen Lösungen sind bei 2...8°C aufzubewahren und enthalten 0.1 % Kathon. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

6.4. IgG-Probenverdünnungspuffer

Die Flasche enthält 100 ml Phosphatpuffer, Stabilisatoren, Konservierungsmittel und einen inerten gelben Farbstoff. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. Die Lösung wird für die Verdünnung der Proben eingesetzt. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

6.5. Waschlösung (20x konz.)

Die Flasche enthält 50 ml konzentrierten Puffer, Detergenzien und Konservierungsmittel. Der Inhalt wird auf einen Liter mit Aqua dest. verdünnt (1+19). Der verdünnte Puffer ist bei Raumtemperatur 5 Tage haltbar. Die Waschlösung wird zum Waschen der Streifen eingesetzt. *Sollte eine Kristallisation im Konzentrat auftreten, die Waschlösung auf 37°C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen. Nach dem ersten Öffnen, Konzentrat haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

6.6. TMB-Substratlösung

Das Fläschchen enthält 15 ml eines Tetramethylbenzidin/Wasserstoffperoxidgemisches. Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C vor Licht geschützt aufzubewahren. *Die Lösung ist leicht hellblau. Sollte die TMB-Substratlösung dunkelblau sein, ist sie kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden. Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum Verfallsdatum bei sachgerechter Lagerung von 2...8°C.*

6.7. Stopplösung

Das Fläschchen enthält 15 ml 0,2 M Schwefelsäure (R36/38, S26). Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8°C aufzubewahren. *Nach dem ersten Öffnen haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum (bei 2...8°C).*

7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

Es sollten humane Serum- oder Plasmaproben (Citrat) verwendet werden. Werden die Bestimmungen innerhalb von 5 Tagen nach Blutentnahme durchgeführt, können die Proben bei 2...8°C aufbewahrt werden, sonst tiefgefrieren (-70...-20°C). Wieder aufgetaute Proben vor dem Verdünnen gut schütteln. *Wiederholtes Tiefgefrieren und Auftauen vermeiden!*
Hitzeinaktivierung der Proben wird nicht empfohlen.

7.1. Probenverdünnung

Proben vor Testbeginn im Verhältnis 1+100 mit IgG-Probenverdünnungspuffer verdünnen, z.B. 10µl Probe und 1 ml IgG-Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1+100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

Proben mit erwarteter Antikonzentration oberhalb der Konzentration von Standard D (100 IU/ml) sollten nach der oben beschriebenen Verdünnung 1+10 weiter verdünnt werden, z.B. 20µl der ersten Probenverdünnung + 200µl IgG-Probenverdünnungspuffer (Verdünnungsfaktor: 11).

8. TESTDURCHFÜHRUNG

8.1. Testvorbereitung

Gebrauchsinformation **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Arbeitsanleitung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschriffe von drei auf fünf und das Volumen der Waschlösung von 300 µl auf 350 µl zu erhöhen. Vor Testbeginn auf dem mitgelieferten Ergebnisblatt die Verteilung bzw. Position der Patientenproben und Standards auf den Mikrotiterstreifen genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Hierbei mindestens

1 Vertiefung (z.B. A1) für den Substratleerwert (Blank),
4 Vertiefungen (z.B. B1,C1, etc) für die Standards A, B, C und D.

Für Standards und Patientenproben wird Doppelbestimmung empfohlen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Standards und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Brutschrank auf $37 \pm 1^\circ\text{C}$ einstellen.

1. Je 100 µl Standard A, B, C und D und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Vertiefung A1 ist für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **1 h ± 5 min bei 37°C inkubieren.**
4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300µl Waschlösung waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte mindestens 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen mit den Öffnungen nach unten kurz auf Fliesspapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.

Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falsch erhöhten Messergebnissen führt!

5. 100µl Rubellavirus anti-IgG Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes vorgesehenen, pipettieren. Mit Folie abdecken.
6. **30 min bei Raumtemperatur (20...25°C) inkubieren.** Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100µl TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
9. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25°C) inkubieren.**
10. In alle Vertiefungen 100µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei der TMB-Substratlösung Zugabe pipettieren. *Während der Inkubation gebildete blaue Farbe schlägt in gelb um.*

Hinweis: Hochpositive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Chromogens verursachen! Diese Präzipitate beeinflussen die Messwerte. Es wird empfohlen, die Patientenprobe wie unter 7.1. beschrieben weiter zu verdünnen und den Test zu wiederholen.

11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen.

8.2. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes (Blank) in A1 den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers (ELISA-Readers) vornehmen.

Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert der Position A1 von allen anderen Extinktionswerten abgezogen werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

Extinktion aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der vier Standards und Proben in das Ergebnisblatt eintragen.

Eine **bichromatische Messung** mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

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

9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

9.1. Testgültigkeitskriterien

Der Test wurde richtig durchgeführt, wenn er folgende Kriterien erfüllt:

- **Substrat-Leerwert** in A1: Extinktion **niedriger als 0.100**
 - **Standard A** in B1: Extinktion **< 0.200**
 - **Standard B** in C1: Extinktion **> 0.200**
 - **Standard C** in D1: Extinktion **> 0.700**
 - **Standard D** in E1: Extinktion **> 1.100**
- Standard A < Standard B < Standard C < Standard D**

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

9.2. Messwertberechnung

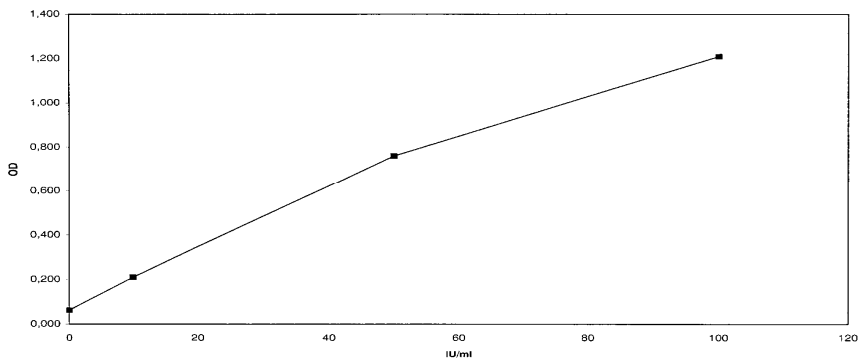
Um **quantitative Ergebnisse in IU/ml** zu erhalten, die Extinktionswerte der vier Standards A, B, C, und D gegen ihre entsprechende Konzentration (0, 10, 50, 100 IU/ml) auftragen und eine Standardkurve erstellen (Extinktionswerte auf der vertikalen y-Achse; Konzentrationen auf der horizontalen x-Achse).

Anhand dieser Standardkurve Ergebnisse die gemittelten Extinktionswerte der jeweiligen Patientenproben ablesen.

Bemerkung: Ergebnisse zusätzlich (z.B. 1+10) verdünnter Proben müssen mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor multipliziert werden! (Verdünnung 1+10; Verdünnungsfaktor: 11)

Im Handel erhältliche Auswertungsprogramme ermöglichen eine automatische Erstellung der Standardkurve und Kalkulation der Ergebnisse. Zur Berechnung der Standardkurve können Punkt zu Punkt Funktionen gewählt werden.

9.3. Typische Standardkurve



9.4. Interpretation der Ergebnisse

Normwert-Bereiche für diesen ELISA sollten, basierend auf dem entsprechenden Patientenkollektiv im jeweiligen Einzugsgebiet, individuell von jedem Labor erstellt werden.

Folgende Angaben gelten als Richtlinien:

- Reaktiv:** >15 IU/ml
Grauzone: 10 – 15 IU/ml
Nicht-reaktiv: <10 IU/ml

10. TESTMERKMALE

10.1. Präzision

Intraassay	n	Mittelwert	Vk (%)
Standard B	6	0.54	7.9
Standard C	6	1.73	3.4
Standard D	6	2.34	2.5

Interassay	n	Mittelwert	Vk (%)
Standard B	8	0.50	7.6
Standard C	6	1.64	4.6
Standard D	6	2.19	6.3

10.2. Diagnostische Spezifität

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern. Sie ist >98 %.

10.3. Diagnostische Sensitivität

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern. Sie ist >98 %.

10.4. Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des Tests ist definiert als die kleinste Konzentration, die vom Nullstandard unterschieden werden kann. Sie beträgt 1.0 IU/ml.

10.5. Interferenzen

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml für Hämoglobin, von 5 mg/ml Triglyceride und von 0,5 mg/ml für Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

Hinweis: Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen

11. GRENZEN DES VERFAHRENS

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

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.

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

12. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Gemäß Art. 1 Abs. 2b der EU-Richtlinie 98/79/EG legt der Hersteller die Zweckbestimmung von In-vitro-Diagnostika fest, um deren Eignung, Leistung und Sicherheit sicherzustellen. Daher sind die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAG nicht-reaktiv getestet. Dennoch sind alle Materialien als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat- und Standardfläschchen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten Patientenproben und Konjugat sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der NovaLisa™ ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.

WARNUNG: Bronidox L zeigt in der verwendeten Konzentration nahezu keine toxikologischen Risiken an Haut bzw. Schleimhaut.

WARNUNG: Schwefelsäure reizt Augen und Haut! Nach Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen.

12.1. Entsorgungshinweise

Chemikalien und Zubereitungen sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde informiert über die Entsorgung von Sonderabfällen.

13. BESTELLINFORMATIONEN

Produktnummer: RUBG0400 Rubellavirus IgG-ELISA (96 Bestimmungen)

1. INTRODUCTION

La rubéole est un virus ARN enveloppé qui appartient à la famille des Togaviridae. Le virus a une forme sphérique et mesure environ 50-70 nm en diamètre. Il semble y avoir qu'un seul type antigénique, et aucune réaction croisée avec des alphavirus ou d'autres membres de la groupe des togavirus n'a été trouvée. Les virus de la rubéole sont des pathogènes de la région respiratoire et transmis principalement par l'infection de gouttelettes. La rubéole est une maladie contagieuse qui se produit dans le monde entier avec des symptômes légers et des éruptions généralisées. Dans l'enfance, la rubéole est une maladie sans importance, mais quand elle se produit pendant la grossesse, il y a un risque significatif de dommages graves au fœtus.

Le risque de rubéole congénitale dépend surtout du mois de la grossesse où l'infection se produit : en tout, environ 16% des nourrissons ont de graves défauts à la naissance, à la suite d'une rubéole maternelle pendant les 3 premiers mois de grossesse. L'infection congénitale de rubéole peut mener à un syndrome avec un ou plusieurs organes atteints, connu sous le nom de embryopathia rubeolosa. Dans certains cas, l'infection est inaperçue mais peut causer des dommages consécutifs, comme des défauts d'œil, la surdité, des retards de croissance, et cetera. D'habitude, l'immunité acquise naturellement est durable, mais une réinfection est possible en raison de niveaux décroissants d'anticorps. Un vaccin à virus vivants est utilisé pour l'immunisation.

Espèce	La maladie	Symptômes	Mécanisme de l'infection
Virus de la rubéole	rubéole acquise	éruptions généralisées (fièvre, nausée)	Transmission par contact étroit, diffusion le plus probablement par des gouttelettes par voie de la région respiratoire
	syndrome de rubéole congénitale (Embryopathia rubeolosa)	Lésions cardiovasculaires, défauts d'œil, surdité, lésions du SNC	infection fœtale : transmission par diffusion hématogène pendant la virémie maternelle

L'infection peut être identifiée par

- Détection du virus par PCR (prénatal)
- Inhibition de Hémagglutination, test d'Hémolyse sur gel
- Détection des anticorps par EIA, ELISA

2. UTILISATION PRÉVUE

L'ELISA d'IgG virus de la Rubéole de NovaTec est prévu pour la détermination quantitative des anticorps IgG contre le virus de la Rubéole en sérum humain ou plasma (citrate).

3. PRINCIPE DE L'ANALYSE

La détermination immunoenzymatique quantitative des anticorps IgG contre le virus de la Rubéole est basée sur la technique d'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Des puits dans les bandes du plaque microtitre sont recouverts d'antigènes du virus de la Rubéole pour attacher les anticorps correspondants du spécimen. Après le lavage des puits ayant pour but d'enlever l'échantillon détaché, l'anti-humain IgG conjugué à HRP (horseradish peroxidase) est ajouté. Ce conjugué s'attache aux anticorps spécifiques pour le virus de la Rubéole. Le complexe immun constitué par le conjugué attaché est visualisé en ajoutant le substrat de Tetraméthylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu. L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps IgG spécifiques pour le virus de la Rubéole dans le spécimen. De l'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Ceci produit une couleur jaune. L'absorbance à 450 nm est lue en utilisant un lecteur plaque microtitre (microwell plate reader) d'ELISA.

4. MATÉRIAUX

4.1. Réactifs fournis

- **Puits recouverts de virus de la Rubéole (IgG) :** 12 bandes cassables contenant 8 puits recouverts d'antigènes du virus de la Rubéole; en sachets d'aluminium refermables.
- **Diluant de l'échantillon IgG *** :** 1 bouteille contenant 100 ml d'amortisseur pour la dilution de l'échantillon ; pH 7.2 ± 0.2 ; coloré jaune ; prêt à utiliser ; couvercle blanc.
- **Solution D'Arrêt :** 1 bouteille contenant 15 ml d'acide sulfurique, 0.2 mol/l ; prêt à utiliser ; couvercle rouge.
- **Solution de lavage (20x concentré.) * :** 1 bouteille contenant 50 ml d'un amortisseur 20-fois concentré (pH 7.2 ± 0.2) pour laver les puits ; couvercle blanc.
- **Conjugué anti-IgG virus de la Rubéole ** :** 1 bouteille contenant 20 ml d'anticorps conjugués à peroxydase contre l'IgG humain ; coloré bleu, prêt à utiliser ; couvercle noir.
- **Solution de substrat de TMB :** 1 bouteille contenant 15 ml 3,3',5,5'-tetraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à utiliser; couvercle jaune.

- **Virus de la Rubéole Standards ***** : 4 bouteilles, chacune contenant 2 ml, coloré jaune; prêt à utiliser.

Standard A :	0	IU/ml ; couvercle bleu
Standard B :	10	IU/ml ; couvercle vert
Standard C :	50	IU/ml ; couvercle jaune
Standard D :	100	IU/ml ; couvercle rouge

- * contient 0.1 % de Bronidox L après dilution
- ** contient 0.2 % de Bronidox L
- *** contient 0.1 % de Kathon

4.2. Matériaux fournis

- 1 support de bande
- 1 couverture autocollante
- 1 protocole d'essai
- 1 plan de distribution et d'identification

4.3. Matériaux et équipement requis

- lecteur plaque microtitre (microwell plate reader) d'ELISA, équipé pour le mesurage de l'absorbance à 450/620nm
- Incubateur 37°C
- Équipement manuel ou automatique pour rincer les puits
- Pipettes pour usage entre le 10 et 1000 µl
- Mélangeur Vortex
- Eau désionisée ou (fraîchement) distillée
- Tubes jetables
- Chronomètre

5. STABILITÉ ET STOCKAGE

Les réactifs sont stables jusqu'à la date d'échéance indiquée sur l'étiquette une fois stockés à 2... 8°C.

6. PRÉPARATION DE RÉACTIF

Il est très important que tous les réactifs, échantillons et contrôles soient à la température de la pièce (20... 25°C) avant de commencer l'analyse!

6.1. Bandes recouvertes cassables

Les bandes cassables sont recouvertes d'antigène du virus de la Rubéole et sont prêt à utiliser. Conserver à 2... 8°C. *Après avoir détaché des bandes, les bandes restantes devraient tout de suite être refermées dans le sachet d'aluminium avec le desiccant fourni et être conservées à 2... 8°C; stable jusqu'à la date d'échéance. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

6.2. Conjugué anti-IgG virus de la Rubéole

La bouteille contient 20ml d'une solution avec de la peroxydase de raifort anti-humaine-IgG, l'amortisseur, les stabilisateurs, les préservatifs et un colorant bleue inerte. La solution est prêt à utiliser. Conserver à 2... 8°C. *Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

6.3. Standards

Les fioles marquées avec standard A, B, C et D contiennent une solution standard prêt à utiliser. La concentration des standards, calibrée selon le standard international de l'OMS, est :

Standard A :	0 IU/ml
Standard B :	10 IU/ml
Standard C :	50 IU/ml
Standard D :	100 IU/ml

Les solutions contiennent 0.1% Kathon et doivent être stockée à 2... 8°C. *Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

6.4. Diluant de l'échantillon IgG

La bouteille contient 100ml d'un amortisseur de phosphate, des stabilisateurs, des préservatifs et un colorant jaune inerte. Elle est employée pour la dilution de l'échantillon du patient. Cette solution prêt à utiliser doit être stocké à 2... 8°C. *Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

6.5. Solution de lavage (20x conc.)

Le flacon contient 50 ml d'un tampon concentré, des détergents, des stabilisants et des conservateurs. Diluer la solution de lavage au 1/20^{ème} ; par exemple 10 ml de la solution de lavage + 190 ml d'eau bidistillée récente et non contaminée. *Le tampon dilué est stable pendant cinq jours si conservé à +2...+8°C. Le tampon concentré reste stable jusqu'à la date de péremption s'il est conservé à +2...+8°C. Les cristaux dans la solution disparaissent en chauffant à 37°C dans un bain marie.*

6.6. Solution de substrat de TMB

La bouteille contient 15ml d'un système de peroxyde de tetramethylbenzidine/hydrogen. Le réactif est prêt à utiliser et doit être stocké à 2... 8°C, loin de la lumière. *La solution devrait être sans couleur ou avoir une légère teinte bleue. Si le substrat se transforme en bleu, il a pu être contaminé et devrait être remplacé. Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

6.7. Solution d'arrêt

La bouteille contient 15ml d'une solution acide sulfurique de 0.2 M (R 36/38, S 26). Cette solution est prêt à utiliser et doit être stocké à 2... 8°C. *Après premier usage stable jusqu'à la date d'échéance une fois stocké à 2... 8°C.*

7. COLLECTION ET PRÉPARATION DES SPÉCIMENS

Utilisez des échantillons de sérum humain ou plasma (citrate) pour cette analyse. Si l'analyse est exécutée dans un délai de 5 jours après la collection de l'échantillon, le spécimen devrait être maintenu à 2... 8°C ; autrement ils devraient être aliquotés et conservés surgelés (-20 à -70°C). Si les échantillons sont conservés congelés, mélangez les échantillons décongelés bien avant l'analyse. *Évitez congélation et décongélation répétée.*

L' inactivation par la chaleur des échantillons n'est pas recommandée.

7.1. Dilution de l'échantillon

Avant l'analyse, tous les échantillons devraient être dilués 1+100 avec le diluant de l'échantillon IgG.

Diluer 10µl de l'échantillon avec 1ml du diluant de l'échantillon IgG dans des tubes pour obtenir une dilution 1+100 et mélanger celle-ci soigneusement par un Vortex.

Pour des patients avec des concentrations prévues plus élevées que standard D (100 IU/ml), une deuxième dilution 1+10 de cet échantillon dilué 1+100 devrait être utilisée ; par exemple 20 µl de la première dilution d'échantillon + 200 µl du diluant de l'échantillon IgG (mélanger soigneusement). Facteur de dilution : 11.

8. PROCÉDÉ D'ANALYSE

8.1. Préparation d'analyse

Lire attentivement la notice d'emploi **avant** de réaliser le dosage. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict du protocole. La technique de dosage suivante a été validée uniquement pour une procédure manuelle. Si le dosage doit être effectué sur un automate, nous conseillons d'augmenter le nombre d'étapes de lavage de trois à cinq et le volume de la solution de lavage de 300 à 350 µl. Avant de commencer le dosage, déterminer, sur le formulaire fourni dans la trousse, le plan de distribution et d'identification des échantillons et des standards. Sélectionner le nombre de barrettes ou de puits nécessaires et les placer sur le support.

Veillez assigner au moins :

1 puits (par exemple A1) pour le substrat blanc,
4 puits (par exemple B1, C1, etc.) pour les standards A, B, C et D.

C'est recommandé de déterminer les contrôles et les échantillons du patient deux fois, si nécessaire.

Exécutez toutes les étapes de l'analyse dans l'ordre donné et sans délai entre les étapes.

Une pointe de pipette propre et jetable devrait être employée pour aliquoter chaque contrôle et échantillon.

Ajuster l'incubateur à 37° ± 1°C.

1. Pipettez 100µl de standard (A, B, C et D) et les échantillons dilués dans leurs puits respectifs. Gardez le puits A1 pour le substrat blanc.
2. Couvrez les puits de couvertures autocollantes.
3. **Incuber pour 1 heure ± 5 minutes à 37±1°C.**
4. Quand l'incubation a été accomplie, enlevez la couverture, aspirez le contenu des puits et lavez chaque puits trois fois avec 300µl de solution de lavage. Évitez les débordements des puits de réaction. Le temps de trempage entre chaque cycle de lavage devrait être > 5sec. À la fin, enlevez soigneusement le fluide restant en tapant les bandes sur des papiers en tissu avant la prochaine étape !
Note : Le lavage est décisif ! Un lavage insuffisant peut mener à une précision faible et à des valeurs d'absorbance faussement élevées.
5. Pipettez 100µl du conjugué anti-IgG virus de la Rubéole dans tous les puits sauf le puits blanc (par exemple A1). Fermez avec la couverture autocollante.
6. **Incuber pendant 30 minutes à la température de la pièce.** *Ne pas exposer à la lumière du soleil directe.*
7. Répétez l'étape numéro 4.
8. Pipetter 100µl de la solution de substrat de TMB dans tous les puits.
9. **Incuber pendant exactement 15 minutes à la température de la pièce dans l'obscurité.**
10. Pipetter 100µl de la solution d'arrêt dans tous les puits dans le même ordre et à la même vitesse que pour la solution de substrat de TMB.
N'importe quelle couleur bleue développée pendant l'incubation se transforme en jaune.
Note : Des échantillons de patients fortement positifs peuvent causer des précipités foncés du chromogène ! Ces précipités peuvent influencer les valeurs mesurées de la densité optique. Il est recommandé de diluer l'échantillon avec la solution physiologique de chlorure de sodium, par exemple 1+1. Ensuite diluer l'échantillon 1+100 avec l'amortisseur et multiplier les résultats en NTU (NovaTec units) par 2.
11. Mesurer l'absorption du spécimen à 450/620nm dans un délai de 30 minutes après l'addition de la solution d'arrêt.

8.2. Mesurage

Ajuster le lecteur plaque microtitre (microwell plate reader) d'ELISA à zéro en utilisant le substrat blanc dans le puits A1.

Si - pour raisons techniques - le lecteur d'ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le substrat blanc dans le puits A1, soustraire la valeur d'absorption du puits A1 de toutes les autres valeurs d'absorption mesurées afin d'obtenir des résultats fiables !

Mesurer l'absorption de tous les puits à 450 nm et enregistrer les valeurs d'absorption pour chaque standard et échantillon de patient dans le plan de distribution et d'identification.

Une lecture bichromatique de longueur d'onde employant 620 nm comme longueur d'onde de référence est recommandée.

En cas de plusieurs mesurages, calculer les valeurs moyennes d'absorption de tous les résultats.

9. RÉSULTATS

9.1. Critères De Validité

Afin qu'une analyse soit considérée valide, les critères suivants doivent être respectés :

- **Blanc Substrat** dans A1 : Valeur d'absorbance < **0.100**.
- **Etalon A** dans B1 : Valeur d'absorbance < **0.200**.
- **Etalon B** dans C1 : Valeur d'absorbance > **0.200**
- **Etalon C** dans D1 : Valeur d'absorbance > **0.700**
- **Etalon D** dans E1 : Valeur d'absorbance > **1.100**

Etalon A < Etalon B < Etalon C < Etalon D

Lorsque ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

9.2. Calcul des résultats

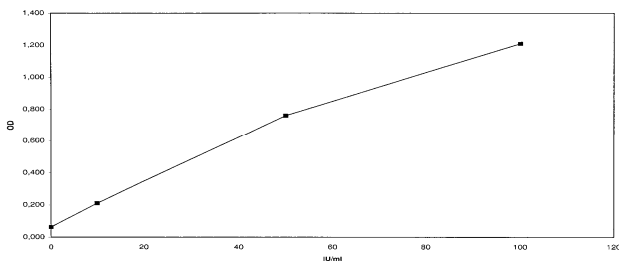
Afin d'obtenir des résultats quantitatifs en IU/ml, inscrire les valeurs (moyennes) d'absorption des 4 standards A, B, C et D sur papier millimétré (linéaire/ linéaire) dans un système de coordonnées.

Inscrire les valeurs d'absorption sur l'axe verticale et leurs concentrations correspondantes (0, 10,50 et 100 IU/ml) sur l'axe horizontale, et dessiner une courbe d'étalonnage standard.

Lire les résultats de cette courbe standard en utilisant les valeurs (moyennes) d'absorbance de chaque spécimen patient et de chaque standard.

NOTE : Les résultats des échantillons dilués une deuxième fois (1+10) doivent être multipliés par le facteur de dilution approprié afin d'obtenir des résultats corrects ! (dilution : 1+10 = facteur de dilution : 11). (voir chapitre 7.1. « Dilution de l'échantillon »).

9.3. Courbe d'Étalonnage Typique



9.4. Interprétation des résultats

Des gammes normales de valeur pour cet ELISA devraient être établies par chaque laboratoire basé sur ses propres patients (des variations géographiques peuvent se produire).

Les valeurs suivantes devraient être considérées comme directives :

- Réactif > 15 IU/ml
- Zone grise (équivoque) : 10 - 15 IU/ml
- Non réactif : < 10 IU/ml

10. CARACTÉRISTIQUES D'EXÉCUTION

10.1. Précision

Intra-analyse	n	moyenne	cv (%)
Standard B	6	0.54	7.9
Standard C	6	1.73	3.4
Standard D	6	2.34	2.5

Inter-analyse	n	moyenne	cv (%)
Standard B	8	0.50	7.6
Standard C	6	1.64	4.6
Standard D	6	2.19	6.3

10.2. Spécificité diagnostique

La spécificité diagnostique est définie comme la probabilité d'obtenir d'un résultat négatif en l'absence d'un analyte spécifique. Elle est supérieure à >98%.

10.3. Sensibilité diagnostique

La sensibilité diagnostique est définie comme la probabilité d'obtenir d'un résultat positif en présence d'un analyte spécifique. Elle est supérieure à >98%.

10.4. Sensibilité analytique

La Sensibilité analytique – définie comme concentration apparente de l'analyte qui peut être distinguée du calibre zéro – est 1.0 IU/ml.

10.5. Interférence

Aucune interférence n'a été observée sur des sérums hémolytiques, lipémiques ou ictériques pour des concentrations allant jusqu'à 10 mg/ml d'hémoglobine, 5 mg/ml de triglycérides et 0.5 mg/ml de bilirubine.

Ces résultats s'appuient sur les groupes d'échantillons étudiés ; il n'agit pas de caractéristiques techniques garanties.

11. LIMITATIONS DU PROCÉDÉ

Une contamination bactérienne ou des cycles gel-dégel répétés du spécimen peuvent affecter les valeurs d'absorption. Le diagnostic d'une maladie infectieuse ne devrait pas être établi sur la base du résultat d'une seule analyse. Un diagnostic précis devrait prendre en considération l'histoire clinique, la symptomatologie ainsi que les données sérologiques.

Les données sérologiques sont de valeur limitée dans le cas des patients immunocompromis et des nouveaux-nés.

12. PRÉCAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- En accord avec l'article 1 paragraphe 2b de la directive européenne 98/79/EC, l'utilisation des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro est destinée par le fabricant à garantir le bien-fondé, les performances et la sécurité du produit. Par conséquent, la procédure de dosage, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'emploi, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces trousseaux avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de dosage, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont autorisés ; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces motifs. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Uniquement pour diagnostic in vitro.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été trouvés non réactifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHI 1 et 2 et en anticorps anti-VHC. Néanmoins, tous les produits doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Ne pas échanger les réactifs ou les barrettes provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de cette trousse.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des embouts de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée.
- Fermer soigneusement les flacons après utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et le conjugué exactement au fond des puits sans éclabousser.
- Le NovaLisa™ ELISA est uniquement destiné à l'utilisation par un personnel compétent maîtrisant parfaitement les techniques de travail.

AVERTISSEMENT : Dans la concentration utilisée, Bronidox L ne pose pratiquement aucun risque toxicologique lors du contact avec la peau et les membranes muqueuses !

AVERTISSEMENT : L'acide sulfurique irrite les yeux et la peau. Garder hors de la portée des enfants. Lors du contact avec les yeux, rincer soigneusement avec de l'eau et consulter un médecin !

12.1. Mesures d'élimination

Les résidus de réactifs et des préparations sont considérés comme de déchets potentiellement dangereux. L'élimination de ces déchets est soumise à des réglementations nationales et locales. Contacter les autorités locales ou les sociétés spécialisées pour obtenir des conseils sur l'élimination des déchets dangereux.

13. INFORMATION DE COMMANDES

Numéro de Produit : RUBG 0400 Virus de la Rubéole IgG-ELISA (96 déterminations)

1. INTRODUZIONE

Il Rubivirus contiene RNA a singola catena, è con involucro e appartiene alla famiglia dei togavirus. È l'unico membro del genere rubivirus. Ha una forma sferica e un diametro di 50-70 nm. La rosolia è una malattia acuta febbrile caratterizzata da rash e da linfadenopatia ai linfonodi postero-auricolari e suboccipitali che infetta bambini e giovani adulti. È il più lieve tra gli esantemi virali. Ciò nonostante, un'infezione durante i primi mesi di gravidanza potrebbe portare a gravi anomalie fetali. Nelle prime settimane, l'infezione causa aborto spontaneo, morte intra-uterina oppure la cosiddetta sindrome della rosolia congenita (SRC), che comporta, fra l'altro cecità, sordità, malformazioni cardiache, ritardo mentale. La rosolia esternamente si manifesta con un'eruzione cutanea simile a quelle del morbillo o della scarlattina. Nei bambini e adulti la trasmissione avviene soprattutto attraverso goccioline sospese nell'aria eliminate con la tosse ed il respiro. Una volta contratta, la rosolia dà un'immunizzazione teoricamente definitiva.

La rosolia è diffusa in tutto il mondo e l'uomo è l'unico serbatoio naturale dell'agente eziologico. Nei paesi a clima temperato, si riscontra prevalentemente nel periodo invernale o in primavera.

Specie	Malattia	Sintomi	Modo d'infezione
Rubivirus	Rosolia (Rubeola)	Eruzione cutanea simile a quelle del morbillo o della scarlattina	Trasmissione: aerea; contatto diretto con una persona infetta
	Sindrome della rosolia congenita (SRC)	cecità, sordità, malformazioni cardiache, ritardo mentale	Trasmissione transplacentare

Diagnosi

- PCR
- Sierologia: ELISA, agglutinazione

2. USO PREVISTO

Il NovaTec Rubivirus IgG ELISA è un kit per la determinazione quantitativa degli anticorpi specifici della classe IgG per Rubivirus nel siero o plasma (citrato) umano.

3. PRINCIPIO DEL TEST

La determinazione quantitativa degli anticorpi IgG per Rubivirus si basa sul principio ELISA. I pozzetti delle micropiastre contengono una fase solida con antigeni specifici del Rubivirus. Anticorpi specifici nel campione si legano agli antigeni immobilizzati nei pozzetti. Gli anticorpi del coniugato (perossidasi di rafano-anticorpi anti-IgG umani) si legano ai complessi antigene (fase solida)-anticorpo (paziente) nei campioni positivi. Questi complessi vengono evidenziati da una colorazione blu dopo l'incubazione con la soluzione TMB. L'intensità di questa colorazione è direttamente proporzionale alla quantità di anticorpi specifici per il Rubivirus di classe IgG presenti nel campione. Fermando la reazione enzimatica con acido solforico si causa un cambiamento di colore dal blu al giallo che può essere misurato facilmente con un fotometro per l'ELISA a 450 nm.

4. MATERIALI

4.1. Reagenti forniti

- **Micropiastre con antigeni del Rubivirus (IgG):** 12 strisce divisibili in 8 pozzetti, con adesivi antigeni del Rubivirus; dentro una busta d'alluminio richiudibile.
- **Tampone diluente IgG***:** 1 fialone contenente 100 ml di tampone per diluire i campioni; pH 7.2 ± 0.2; color giallo; pronto all'uso; tappo bianco.
- **Soluzione stop:** 1 fialone contenente 15 ml di acido solforico, 0.2 mol/l, pronto all'uso; tappo rosso.
- **Tampone di lavaggio (20x conc.):*** 1 fialone contenente 50 ml di un tampone concentrato 20 volte per il lavaggio dei pozzetti; pH 7.2 ± 0.2; tappo bianco.
- **Coniugato Rubivirus anti IgG**:** 1 fialone contenente 20 ml anti-IgG umani, coniugati a perossidasi; color azzurro; pronto all'uso; tappo nero.
- **Soluzione TMB:** 1 fialone contenente 15 ml di 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB); pronto all'uso; tappo giallo.
- **Rubivirus IgG Standards***:** 4 fialoni, contenenti 2 ml, pronti all'uso:

Standard A:	0	IU/ml; tappo blu
Standard B:	10	IU/ml; tappo verde
Standard C:	50	IU/ml; tappo giallo
Standard D:	100	IU/ml; tappo rosso

* contiene 0.1 % Bronidox L dopo diluizione

** contiene 0.2 % Bronidox L

*** contiene 0.1 % Kathon

4.2. Accessori forniti

- 1 pellicola adesiva
- 1 supporto per micropiastre
- 1 istruzione per l'uso
- 1 foglio di controllo

4.3. Materiali e attrezzature necessari

- Fotometro per micropiastre con filtri da 450/620 nm
- Incubatore a 37°C
- Lavatore di micropiastre
- Micropipette con punte monouso (10, 100, 200, 1000 µl)
- Vortex-Mixer
- Provette monouso
- Supporto per provette
- Acqua deionizzata o distillata.
- Timer

5. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE

I reagenti devono essere conservati tra 2...8°C. Non usare i reagenti dopo la scadenza. La data di scadenza è stampata sull'etichetta di ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

6. PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente (20...25°C) prima dell'uso!

6.1. Micropiastre

I pozzetti sono separabili e sotto vuoto. Contengono adesivi antigeni inattivati del Rubivirus. I pozzetti, pronti all'uso, devono essere conservati tra 2-8°C. *Riporre i pozzetti non utilizzati nel sacchetto con il gel essiccante di silice. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.2. Coniugato Rubivirus IgG

Il flacone contiene 20 ml di anticorpi anti-IgG umani coniugati a perossidasi di rafano, stabilizzanti, conservanti e un colorante inerte azzurro. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.3. Standards

I flaconi contengono 2.0 ml di soluzione Standard pronta all'uso con le seguenti concentrazioni:

Standard A:	0	IU/ml
Standard B:	10	IU/ml
Standard C:	50	IU/ml
Standard D:	100	IU/ml

Contengono 0,1% Kathon. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.4. Tampone diluente IgG

Il flacone contiene 100 ml di tampone fosfato, stabilizzanti, conservanti e un colorante giallo inerte. La soluzione viene usata per diluire i campioni. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.5. Tampone di lavaggio (20x conc.)

Il flacone contiene 50 ml di un tampone concentrato, detergenti e conservanti. Il contenuto viene diluito con acqua deionizzata o distillata (1 + 19). Il tampone diluito è stabile fino a 5 giorni se conservato a temperatura ambiente. *Se sono presenti cristalli, scioglierli a 37°C prima di diluire. Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.6. Soluzione TMB

Il flacone contiene 15 ml di 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB) e perossido di idrogeno pronto all'uso. Conservare al buio. *La soluzione è incolore o celeste chiaro. Nel caso in cui diventasse blu significa che è contaminata e non può essere più usata. Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

6.7. Soluzione Stop

Il flacone contiene 15 ml di acido solforico, 0,2 mol/l (R36/38, S26), pronto all'uso. *Una volta aperto, il prodotto è stabile fino alla data di scadenza se conservato tra 2...8°C.*

7. PRELIEVO E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Usare campioni di siero o plasma (citrato) umano. Se il test viene fatto entro 5 giorni dal prelievo i campioni possono essere conservati tra 2-8°C. Altrimenti devono essere aliquotati e congelati tra -70...-20°C. Agitare bene i campioni scongelati prima di diluirli. *Evitare cicli ripetuti di congelamento/scongelamento.*
L'inattivazione dei campioni per mezzo del calore non è raccomandata.

7.1. Diluizione dei campioni

Prima del test, diluire i campioni 1+100 con tampone diluente IgG. Per esempio, pipettare nelle provette 10 µl di campione + 1ml di tampone e mescolare bene (Vortex).

Per pazienti con probabili concentrazioni superiori allo Standard D (100 IU/ml) i campioni devono essere ulteriormente diluiti dopo la diluizione descritta sopra 1+10. Es. 20µl della prima diluizione + 200µl tampone diluente IgG (Fattore di diluizione: 11).

8. PROCEDIMENTO

8.1. Preparazione del test

Leggere bene le istruzioni prima di iniziare il dosaggio. Per ottenere risultati validi è indispensabile seguire esattamente le istruzioni. La seguente procedura è stata validata per l'esecuzione manuale. Per una esecuzione su strumentazione automatica si consiglia di incrementare il numero di lavaggi da 3 a 5 volte e il volume della soluzione di lavaggio da 300 a 350µl per evitare interferenze. Stabilire innanzitutto il piano di distribuzione ed identificazione dei campioni e controlli sul foglio di lavoro fornito con il kit. Inserire i pozzetti necessari nel supporto micropiastre

Utilizzare almeno:

1 pozzetto (es. A1) per il bianco-substrato (blank)
4 pozzetti (z.B. B1, C1, etc) per gli Standards A, B, C e D.

È consigliato effettuare ogni analisi in duplicato.

Eseguire il test nell'ordine stabilito dalle istruzioni, senza pause.

Utilizzare puntali nuovi e puliti per ogni campione e standard.

Regolare l'incubatore a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$

1. Pipettare 100 µl degli standards A B C D e di campione diluito nei relativi pozzetti. Usare il pozzetto A1 per il bianco-substrato.
2. Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva.
3. **Incubare 1 ora \pm 5 min a $37^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.**
4. Al termine dell'incubazione, togliere la pellicola ed aspirare il liquido dai pozzetti. Successivamente lavare i pozzetti cinque volte con 300 µl di tampone di lavaggio. Evitare che la soluzione trabocchi dai pozzetti. L'intervallo tra il lavaggio e l'aspirazione deve essere almeno di 5 sec. Dopo il lavaggio picchiettare delicatamente i pozzetti con l'apertura verso il basso su una carta assorbente per togliere completamente il liquido.

Attenzione: Il lavaggio è una fase critica. Un lavaggio non accurato determina una cattiva precisione del test ed un innalzamento falsato delle densità ottiche.

5. Pipettare 100µl di Coniugato Rubivirus anti-IgG in tutti i pozzetti, escludendo quello con il bianco-substrato (blank). Coprire i pozzetti con la pellicola adesiva.
6. **Incubare 30 min a temperatura ambiente (20° ... 25°C). Non esporre a fonti di luce diretta.**
7. Ripetere il lavaggio secondo punto 4.
8. Pipettare 100µl di Soluzione TMB in tutti i pozzetti.
9. **Incubare precisamente per 15 min a temperatura ambiente (20° ... 25°C) al buio.**
10. Pipettare 100µl di Soluzione Stop in tutti i pozzetti, nello stesso ordine della soluzione TMB. *Durante l'incubazione il colore cambia dal blu al giallo.*

Attenzione: Campioni con un risultato positivo molto alto possono causare precipitati scuri del cromogeno! Questi precipitati influenzano la lettura delle densità ottiche. È consigliato diluire i campioni un'altra volta come descritto in 7.1 e di ripetere il test.

11. Misurare l'assorbanza di tutti i pozzetti a 450/620 nm entro 30 min dopo l'aggiunta della soluzione stop.

8.2. Misurazione

Regolare il fotometro per le micropiastre (ELISA-Reader) a **zero** usando il substrato-bianco (blank) **in A1**. *Se, per motivi tecnici, non è possibile regolare il fotometro sottrarre l'assorbanza del bianco-substrato da tutti i valori delle altre assorbanze.*

Misurare l'assorbanza di tutti i pozzetti a **450 nm** e inserire tutti i valori misurati nel foglio di lavoro.

È raccomandato fare una misurazione delle densità ottiche a doppia lunghezza d'onda utilizzando i 620 nm come lunghezza di riferimento.

Dove sono state misurate in doppio, calcolare **la media delle assorbanze**.

9. RISULTATI

9.1. Validazione del test

Il test é valido se risponde ai prossimi criteri:

- **Substrato bianco** in A1: Assorbanza < **0.100**
- **Standard A** in B1: Assorbanza < **0.200**
- **Standard B** in C1: Assorbanza > **0.300**
- **Standard C** in D1: Assorbanza > **0.500**
- **Standard D** in E1: Assorbanza > **1.100**

Standard A < Standard B < Standard C < Standard D

Se non vengono soddisfatti questi criteri, il test non è valido e deve essere ripetuto.

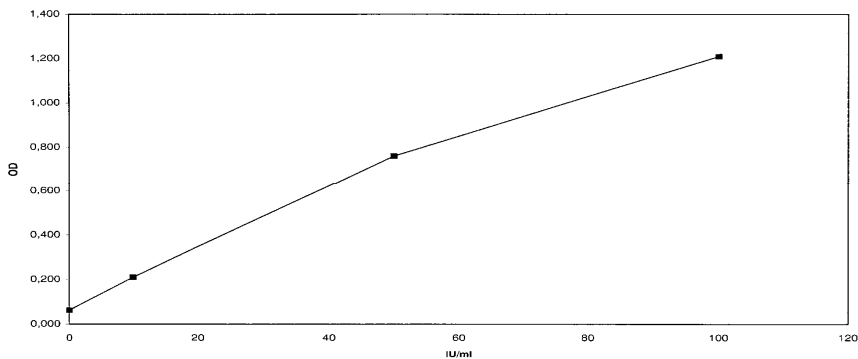
9.2. Calcolo dei risultati

Per ottenere i **risultati quantitativi in IU/ml**, realizzare un diagramma cartesiano ponendo le assorbanze degli Standards A, B, C, e D sull'asse della Y e ponendo le concentrazioni (0, 10, 50, 100 IU/ml) sull'asse della X su cui tracciare la curva standard.

Traendo i risultati da questa curva standard vanno inseriti i valori medi delle assorbanze dei campioni di ogni singolo paziente.

*Attenzione: I risultati dei campioni diluiti due volte devono essere moltiplicati con il fattore di diluizione !
(Diluizione 1+10; fattore di diluizione: 11)*

9.3. Tipica curva standard



9.4. Interpretazione dei risultati

Gli intervalli in cui i valori sono normali per questo ELISA devono essere stabiliti da ogni singolo laboratorio basandosi sulla loro popolazione relativa all'area geografica servita.

I seguenti risultati possono considerarsi indicativi:

- Reattivo:** >15 IU/ml
Dubbio: 10 – 15 IU/ml
Non-reattivo: <10 IU/ml

10. CARATTERISTICHE DEL TEST

10.1. Precisione

Intradosaggio	n	Media	CV (%)
Standard B	6	0.54	7.9
Standard C	6	1.73	3.4
Standard D	6	2.34	2.5
Interdosaggio	n	Media	Cv (%)
Standard B	8	0.50	7.6
Standard C	6	1.64	4.6
Standard D	6	2.19	6.3

10.2. Specificità diagnostica

La specificità diagnostica é la probabilità del test di fornire un risultato negativo in assenza di anticorpi specifici. La specificità diagnostica é pari a >98%.

10.3. Sensibilità diagnostica

La sensibilità diagnostica è la probabilità del test di fornire un risultato positivo in presenza di anticorpi specifici. La sensibilità diagnostica è pari a >98 %.

10.4. Sensitività analitica

La sensitività analitica del test è definita dalla concentrazione più piccola che può essere distinta dallo standard A. Essa equivale a 1,0 IU/ml.

10.5. Possibili interferenze

Campioni emolitici, lipidici ed itterici contenenti fino a 10 mg/mL di emoglobina, 5 mg/mL di trigliceridi e 0,5 mg/mL di bilirubina non hanno presentato fenomeni di interferenza nel presente test.

Nota: I risultati si riferiscono al gruppo di campioni realizzati, questi non sono specifiche garantite.

11. LIMITAZIONI

Una contaminazione da microorganismi o ripetuti cicli di congelamento-scongelo possono alterare i valori delle assorbanze. La diagnosi di una malattia infettiva non deve essere fatta soltanto sulla risultanza di un unico test. È importante considerare anche l'anamnesi ed i sintomi del paziente. I risultati del test da pazienti immunosoppressi e neonati hanno un valore limitato.

12. PRECAUZIONI E AVVERTENZE

- In ottemperanza all'articolo 1, paragrafo 2 della direttiva Europea 98/79/EC, l'uso dei diagnostici medici in vitro è inteso da parte del produttore ad assicurare la congruenza, le prestazioni e la sicurezza del prodotto. Di conseguenza la procedura analitica, le informazioni, le precauzioni e le avvertenze contenute nelle istruzioni per l'uso devono essere seguite scrupolosamente. L'uso dei kit con analizzatori e attrezzature similari deve essere previamente convalidato. Qualunque cambiamento nello scopo, nel progetto, nella composizione o struttura e nella procedura analitica, così come qualunque uso dei kit in associazione ad altri prodotti non approvati dal produttore non è autorizzato; l'utilizzatore stesso è responsabile di questi eventuali cambiamenti. Il produttore non è responsabile per falsi risultati e incidenti che possano essere causati da queste ragioni. Il produttore non è responsabile per qualunque risultato ottenuto attraverso esame visivo dei campioni dei pazienti.
- Solo per uso diagnostico in-vitro.
- Tutti i componenti di origine umana sono stati trovati non reattivi con Anti-HIV-Ab, Anti-HCV-Ab e HBsAg. Nonostante ciò e tutti i materiali devono comunque essere considerati potenzialmente contagiosi e infettivi.
- Non scambiare reagenti e micropiastre di lotti diversi.
- Non utilizzare reagenti di altri produttori insieme con i reagenti di questo kit.
- Non usare dopo la data di scadenza.
- Utilizzare soltanto attrezzatura pulita.
- Non scambiare i tappi dei flaconi.
- Richiudere i flaconi immediatamente dopo l'uso per evitare la vaporizzazione e contaminazione.
- Una volta aperti e dopo relativo stoccaggio verificare i reagenti per una loro eventuale contaminazione prima dell'uso.
- Per evitare contaminazioni crociate e risultati erroneamente alti pipettare i campioni e reagenti con molta precisione nei pozzetti.
- Il NovaLisa™ ELISA è previsto soltanto per essere impiegato da parte di personale specializzato che conosce perfettamente le tecniche di lavoro.

ATTENZIONE: Bronidox L, nella concentrazione usata, mostra quasi assenza di tossicità sulla pelle e sulle mucose.

ATTENZIONE: L'acido solforico irrita occhi e pelle! Dopo il contatto sciacquare immediatamente e abbondantemente. Contattare un medico.

12.1. Smaltimento

In genere tutte le sostanze chimiche vengono considerate rifiuti tossici. Lo smaltimento viene regolato da leggi nazionali. Per ulteriori informazioni contattare l'autorità locale.

13. INFORMAZIONI PER GLI ORDINI

Numero del prodotto: RUBG0400 Rubivirus IgG-ELISA (96 determinazioni)

1. INTRODUCCIÓN

El Rubellavirus es un virus de R.N.A. con envoltura de cadena simple que pertenece al grupo de los Togavirus. Tiene una forma esférica y un diámetro de 50 a 70nm. Parece de existir solamente un tipo de antígeno porque no se encontraron reacciones cruzadas con Alphavirus o otros Togavirus.

Los virus de rubéola son patógeno de la zona respiratoria y transmitidos principalmente por la transferencia de las gotas contaminadas. Rubéola es una enfermedad contagiosa común mundialmente con síntomas constitucionales suaves y las acometidas generalizadas. En niños, es una enfermedad inconsecuente, pero cuando ocurra durante embarazo, hay un riesgo significativo del daño severo al feto.

El riesgo de rubéola congénita depende sober todo del mes del embarazo en el cual se adquiere la infección. En total, aproximadamente 16% de infantes tienen defectos grandes en el nacimiento que sigue rubéola maternal en los primeros 3 meses de gestación.

Rubéola congénita puede conducir a una síndrome con implicaciones solas o múltiples de los órganos, conocido como embriopatía de la rubéola. En algunos casos la infección no es aparente pero resulta en daños consecuentes tales como defectos del ojo, sordera, retraso del crecimiento y otros.

Generalmente, inmunidad adquirida naturalmente es duradero, pero la re-infección es posible debido a los niveles de anticuerpos circulantes. Para la inmunización se utiliza una vacuna que contiene virus vivo.

Especies	Enfermedad	Síntomas	Vía de transmisión
Rubellavirus	Rubéola	Rubor del anillo amigdalino, dolores de cabeza y de los músculos, fiebre, exantema generalizada, linfadenitis dolorosa detrás de las orejas y occipital	Aéreo, por gotitas de fluido contaminado
	Embriopatía de la rubéola	Gravedad depende del estado del embarazo, imagen clásico (Gregg): sordez, cataratas, tetralogía Fallot	

Infecciones pueden ser detectadas por:

- Detección de la A.R.N. del virus a través de RT-PCR
- Detección de anticuerpos específicos a través de la prueba de inhibición de la hemaglutinación o ELISA

2. USO PREVISTO

El ensayo de inmunoenzima de Nova Tec es para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG específicos contra los Rubellavirus en suero o plasma (citato) humano.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimática cuantitativa de anticuerpos específicos contra los Rubellavirus se basa en la técnica del ELISA (Enzym linked Immunosorbent Assay). Las tiras de micropocillos que se usan como fase sólida están recubiertas con antígenos específicos del Rubellavirus inactivado (toxoides). Los anticuerpos existentes en la muestra unen a los antígenos inmovilizados de la placa de microtitulación. El conjugado de anticuerpos IgG anti humano con peroxidasa de rábano, se une con los complejos antígeno-anticuerpo en muestras positivas. Estos complejos inmunológicos desarrollan una coloración azul después de incubarlos con sustrato de tetrametilbenzidina (TMB). Finalmente se añade ácido sulfúrico para detener la reacción, causando un cambio de coloración de azul a amarillo. La densidad óptica se mide con un lector de ELISA a 450nm.

4. MATERIALES

4.1. Reactivos suministrados

- **Microtiras (IgG) recubiertas de antígeno de Rubellavirus:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con antígenos del Rubellavirus, en bolsa de aluminio.
- **Diluyente para IgG de la muestra***:** 1 botella de 100ml de solución de tampón para diluir la muestra; pH 7.2 ± 0.2; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca.
- **Solución de parada:** 1 botella de 15ml de ácido sulfúrico, 0.2mol/l, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **Solución de lavado (20x conc.):** 1 botella de 50ml de una solución de tampón 20x concentrado para lavar los pocillos; pH 7.2 ± 0.2; tapa blanca.
- **Conjugado IgG anti-humano (Rubellavirus)**:** 1 botella de 20ml de conjugado de anticuerpos IgG anti-humano con peroxidasa; color azul; tapa negra.
- **Solución de sustrato de TMB:** 1 botella de 15ml 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB); listo para ser utilizado; tapa amarilla.

- **Rubella-Virus IgG Standards***:** 4 botellas de 2 ml, listas para ser utilizadas:

Estandar A: 0 IU/ml; tapa azul
Estandar B: 10 IU/ml; tapa verde
Estandar C: 50 IU/ml; tapa amarilla
Estandar D: 100 IU/ml; tapa roja

* contiene 0.1% de Bronidox L después de diluir

** contiene 0.2% Bronidox L

*** contiene 0.1% Catón

4.2. Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 soporte
- 1 hoja de instrucciones
- 1 hoja de resultados

4.3. Materiales y instrumentos necesarios

- Fotómetro con filtros de 450/620 nm
- Incubadora/cámara húmeda con termostato
- Dispositivo de lavado manual o automático
- Micropipetas con jeringuillas desechables (10, 100, 200, 1000 µl)
- Mezcladora Vortex
- Tubos de plástico desechables
- Gradilla para los tubos
- Agua destilada
- Cronómetro

5. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

El test tiene que estar almacenado de 2...8°C. No usar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de las botellas y en el exterior.

6. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Todos los reactivos, las muestras y los controles tienen que estar a la temperatura ambiente (20...25°C) antes de ser utilizados!

6.1. Tiras reactivas

Las tiras separables recubiertas con antígeno del Rubellavirus están selladas al vacío. Los pocillos listos para ser utilizados tienen que estar almacenados de 2...8°C. *Mantener los pocillos no utilizados en la bolsa de aluminio junto con el desecante y conservar de 2...8°C. El producto se conserva hasta la fecha de caducidad indicada.*

6.2. Conjugado de IgG anti-humano (Rubellavirus)

La botella contiene 20ml de una solución de IgG anti-humano conjugada con peroxidasa de rábano, tampón, estabilizadores, conservante y un colorante azul inerte. La solución está lista para ser utilizada y tiene que estar almacenada de 2...8°C. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

6.3. Estandar

Las botellas contienen 2.0 ml solución de estándar lista para ser utilizada. Las concentraciones en unidades internacionales (IU) de las soluciones estándar según el estándar internacional de la OMS son:

Estandar A: 0 IU/ml

Estandar B: 10 IU/ml

Estandar C: 50 IU/ml

Estandar D: 100 IU/ml

Las soluciones listas para ser utilizadas tienen que estar almacenadas de 2...8°C y contienen 0.1% de Catón. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

6.4. Tampón de dilución de IgG para la muestra

La botella contiene 100ml de tampón de fosfato, estabilizadores, conservantes y un colorante amarillo inerte. La solución lista para ser utilizada ha de almacenarse entre 2...8°C. La solución se usa para diluir las muestras. *Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

6.5. Solución para lavar (20x conc.)

La botella contiene 50ml de tampón concentrado, detergentes y conservantes. El contenido se diluye con un litro de agua destilada (1+19). La solución diluida es estable 5 días a temperatura ambiente. *La cristalización en el concentrado desaparece al calentarla a 37°C y mezclarla bien antes de usarla. Después de la primera apertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

6.6. Solución de TMB

La botella contiene 15ml de una mezcla de tetrametilbenzidina con peróxido de hidrógeno. La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2...8°C protegida de la luz. *La solución es levemente azulada. En caso de contaminación cambia a una coloración azul más intensa no pudiendo ser utilizada en el ensayo.*

6.7. Solución de parada

La botella contiene 15ml de 0.2 M de ácido sulfúrico (R36/38, S26). La solución lista para ser utilizada se tiene que almacenar entre 2...8°C. *Después de la primera abertura, el producto se conserva hasta la fecha de caducidad si esta almacenado de 2...8°C.*

7. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar muestras de suero o plasma (citato) humano. Si el ensayo se realiza dentro de 5 días después de la toma de sangre, las muestras pueden ser almacenadas de 2...8°C, en caso contrario hay que congelarlas (-20°C). Agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.

No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

7.1. Dilución de las muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1+100 con el tampón de dilución para la muestra de IgG, p.e. 10µl de la muestra con 1ml de tampón, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

Muestras con concentraciones de anticuerpos esperadas más altas que de la concentración del estándar D (100 IU/ml) tienen que estar diluidas otra vez 1+10, p.e. 20µl de la primera dilución + 200µl tampón de dilución para la muestra IgG (factor de dilución: 11).

8. PROCEDIMIENTO

8.1. Preparación del ensayo

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido para el método manual. Para excluir efectos de lavado en caso de utilizar los automáticos ELISA eleva el número de lavado de 3 a 5 veces y el volumen de solución de lavado de 300 µl a 350 µl. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los controles en la hoja de resultados suministrada. Usar la cantidad necesaria de tiras o pocillos en el soporte.

En este caso por lo menos

1 pocillo	(e.G. A1)	para el blanco,
4 pocillos	(e.G. B1, C1)	para los estándares A, B, C y D

Para mayor seguridad es necesario hacer doble ensayo de controles y muestras del paciente.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los estándares y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a $37 \pm 1^\circ\text{C}$

1. Pipetear 100 µl de estándares y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. Incubar **1 h ± 5 min a 37°C**.
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300µl de la solución de lavado. Evita el rebosamiento de los pocillos. El tiempo entre cada lavado y cada aspiración tiene que ser por lo menos de 5 segundos. Para sacar el resto del líquido de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.

Ojo: El lavado es muy importante! Un mal lavado provoca una mala precisión y resultados erróneamente aumentados!

5. Pipetar 100µl de conjugado anti-IgG (Rubellavirus) en cada pocillo con excepción del blanco. Cubrir con una lámina adhesiva.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20...25°C). Evitar la luz solar directa.**
7. Repetir el lavado como en el paso número 4.
8. Pipetar 100µl de sustrato de TMB en todos los pocillos.
9. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente (20...25 C).**
10. Pipetear en todos los pocillos 100µl de la solución de parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con el sustrato de TMB. *Toda coloración azul formada durante la incubación se convierte en amarilla.*

Nota: *Muestras que son altamente positivas pueden causar precipitados negros del cromógeno! Estos precipitados influyen en los valores de las mediciones. Se recomienda diluir las muestras del paciente con solución salina 1+1. Después, preparar la muestra diluida con el tampón de dilución para la prueba de IgG 1+100. En este caso, el resultado se multiplica por 2.*

11. Medir la extinción de la solución en cada pocillo con 450/620nm en un periodo de 30 min después de añadir la solución de parada.

8.2. Medición

Efectuar con ayuda del blanco en el pocillo **A1** la **calibración al cero** del fotómetro (lector de ELISA).

Para obtener resultados correctos, si la calibración no es posible por causas técnicas, hay que sustraer el valor de la extinción de la posición A1 del resto de los valores de extinción!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450nm** y anotar los resultados de los controles y de las muestras en la hoja de resultados.

*Es aconsejable la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620nm.*

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular el **promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes

9. CALCULO DE LOS RESULTADOS

9.1. Criterios de validez del ensayo

El ensayo es válido si se cumplen los siguientes criterios:

- **Blanco** en A1 extinción < **0.100**
- **Estandar A** en B1 extinción < **0.200**
- **Estandar B** en C1 extinción > **0.200**
- **Estandar C** en D1 extinción > **0.700**
- **Estandar D** en E1 extinción > **1.100**

Estandar A < Estandar B < Estandar C < Estandar D

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

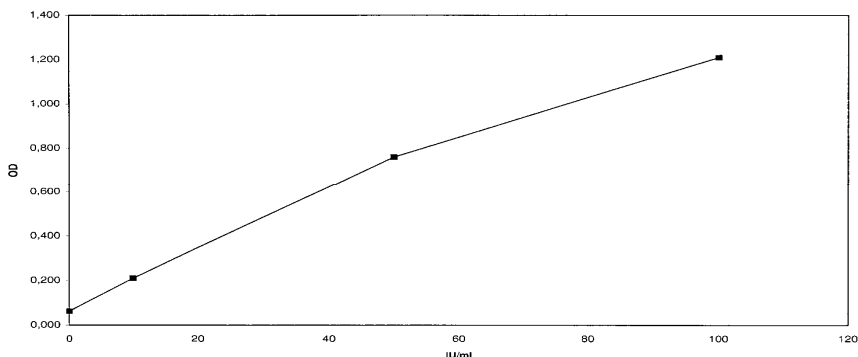
9.2. Calculo del valor de la medición

Para obtener resultados cuantitativos en IU/ml se tiene que establecer una curva estandar con los valores de extinción (eje y) de los 4 estandares A, B, C y D contra sus respectivas concentraciones (0, 10, 50, 100 IU/ml) (eje x).

Con esta curva de estandar se puede leer los resultados por el promedio de las extinciones de las pruebas de los pacientes.

Comentario: Resultados más (p.e. 1+10) pruebas diluidas tienen que estar multiplicados con el factor de dilución! (Dilución 1+10; factor de dilución: 11)

9.3. Curva típica de estandar



9.4. Interpretación de los resultados

Las normas para los resultados del ELISA tienen que estar establecidos con el colectivo respectivo de los pacientes en la área del laboratorio.

Los siguientes datos son normas

Reactivo: >15 IU/ml
Zona intermedia: 10 – 15 IU/ml
No-reactivo: <10 IU/ml

10. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

10.1. Precisión

Intra ensayo	n	Promedio	CV (%)
Estandar B	6	0.54	7.9
Estandar C	6	1.73	3.4
Estandar D	6	2.34	2.5

Inter ensayo	n	Promedio	CV (%)
Estandar B	8	0.50	7.6
Estandar C	6	1.64	4.6
Estandar D	6	2.19	6.3

10.2. Especificidad del ensayo

La especificidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado negativo en ausencia de la sustancia a analizar específicamente. Es de >98%.

10.3. Sensibilidad del ensayo

La sensibilidad del ensayo se define como la probabilidad que tiene el ensayo de dar un resultado positivo en presencia del analítico específico. Es de >98%.

10.4. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se define como la menor concentración que se puede distinguir del estandar cero. Es de 1.0 IU/ml.

10.4. Interferencias

Las muestras lipémicas, ictericas e hemolíticas no mostraron interferencias con este equipo ELISA hasta una concentración de 5 mg/ml para triglicéridos, de 0,5 mg/ml para bilirrubina y de 10 mg/ml hemoglobina.

Los resultados están basados en pruebas de ensayos queales: No se trata de especificaciones garantizadas.

11. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinción.

El diagnóstico de una infección no solamente se debe basar en el resultado del ensayo. Es necesario considerar la anamnesis y la sintomatología del paciente junto al resultado serológico. Estos resultados sólo tienen valor restringido en personas inmunodeprimidas o en neonatos.

12. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- En cumplimiento con el artículo 1 párrafo 2b de la directiva europea 98/79/EC, la utilización de sistemas médicos para diagnóstico in vitro tiene la intención por parte del fabricante de asegurar la adecuación, realizaciones y seguridad del producto. Por lo tanto, el procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnóstico in vitro.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG. No obstante, todos los materiales se deben considerar y tratar como potencialmente infecciosos.
- No intercambiar reactivos y placas de microtítulo de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Pipetear cuidadosamente las muestras y el conjugado en los pocillos para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados.
- El NovaLisa™ ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.

ADVERTENCIA: Bronidox L, en la concentración utilizada, casi no muestra riesgos tóxicos en la piel y en las mucosas.

ADVERTENCIA: El ácido sulfúrico irrita los ojos y la piel! En caso de contacto con los ojos lavar abundantemente con agua y consultar a un médico.

12.1. Indicaciones para la eliminación de residuos

Por regla general, los productos químicos y las preparaciones son residuos peligrosos. Su eliminación esta sometida a las leyes y los decretos nacionales sobre la eliminación de residuos. Las autoridades informan sobre la eliminación de residuos peligroso.

13. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

Nº del producto: RUBG0400 Rubellavirus IgG-ELISA (96 determinaciones)

BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA

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.






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.

Cooper Lz. Current lessons from 20th century serosurveillance data on rubella. *Clin Infect Dis*. 2001 Oct 15;33(8):1287.

Signore C. Rubella. *Prim. Care Update Ob Gyns*. 2001 Jul;8(4):133-137.

Weber B. Current developments in the laboratory diagnosis of rubella. *Bull Soc Sci Med Grand Duche Luxemb*. 1997;134(2):31-41.

Voller,A. and D.E. Bidwell. 1975. A simple method for detection antibodies to rubella.*Brit.J.Exp.Pathology* 56 : 338 – 339

Symbols Key/ Symbolschlüssel/ Explication des symboles/ Legenda/ Símbolos	
	Manufactured by / Hergestellt von/ Fabriqué par/ Prodotto da/ Fabricado por
IVD	In Vitro Diagnostic Medical Device/ In Vitro Diagnosticum/ Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> / Diganostico <i>in vitro</i> / Producto para diagnóstico In vitro
LOT	Lot Number/ Chargenbezeichnung/ Numéro de lot/ Lotto/ Número de lote
	Expiration Date/ Verfallsdatum/ Date de péremption/ Scadenza/ Fecha de caducidad
	Storage Temperature/ Lagertemperatur/ Température de conservation/ Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento
CE	CE Mark/ CE-Zeichen/ Marquage CE / Marchio CE/ MarcaCE
[REF]	Catalogue Number/ Katalog Nummer/ Référence du catalogue/ Numero di codice/ Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use/ Gebrauchsanweisung beachten/ Consulter la notice d'utilisation/ Consultare le istruzioni/ Consulte las Instrucciones de Uso
MTP	Microplate/ Mikrotiterplatte/ Microplaque/ Micropiastra/ Microplaca
CONJ	Conjugate/ Konjugat/ Conjugué/ Coniugato/ Conjugado
CAL	Calibrator/ Kalibrator/ Etalon/ Calibratore/ Calibrador
DIL G	Sample diluent buffer IgG/ IgG-Probenverdünnungspuffer/ Tampon diluant pour échantillon IgG/ soluzione tampone per i campioni IgG/ solución tampón para muestras IgG
SOLN STOP	Stop solution/ Stopplösung/ Solution d'arrêt/Soluzione bloccante/ Solución de parada
SUB TMB	TMB Substrate solution/ TMB-Substratlösung/ Substrat TMB/ soluzione substrato TMB/ solción substrato TMB
WASHBUF 20x	Washing solution 20x concentrated/ Waschlösung 20x konzentriert/ Tampon de lavage concentré 20 x/ soluzione di lavaggio concentrazione x20/ solución de lavado concentrado x20
	Contains sufficient for "n" tests/ Ausreichend für "n" Tests/ Contenu suffisant pour "n" tests/ Contenuto sufficiente per "n" saggi/ Contenido suficiente para "n" tests

SCHEME OF THE ASSAY

Rubella Virus IgG-ELISA

Assay Preparation

Prepare reagents and samples as described.
 Establish the distribution and identification plan for all specimens and standards on the result sheet supplied in the kit.
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate blank (e.g. A1)	Standard A	Standard B	Standard C	Standard D	Sample (diluted 1+100)
Standard A	-	100µl	-	-	-	-
Standard B	-	-	100µl	-	-	-
Standard C	-	-	-	100µl	-	-
Standard D	-	-	-	-	100µl	-
Sample (diluted 1+100)	-	-	-	-	-	100µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 1 h at 37°C Wash each well three times with 300µl of washing solution						
Conjugate	-	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Cover wells with foil supplied in the kit Incubate for 30 min at room temperature Wash each well three times with 300µl of washing solution						
TMB Substrate	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Incubate for 15 min at room temperature in the dark						
Stop Solution	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl	100µl
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)						

NovaTec Immundiagnostica GmbH

Technologie & Waldpark

Waldstr. 23 A6
 D-63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760 Fax: +49 (0) 6074-487629

Email : info@NovaTec-ID.com

Internet: www.NovaTec-ID.com

RUBG0400engl,dt,fr,it,es06042009-CR