

GEBRAUCHSANLEITUNG

Q-fieber IFA IgG Antikörper Kit

Bestellnummer: QG-120
Format: 120 test
Aufbewahrung 2-8°C

Ein indirekter Immunfluoreszenztest zum Nachweis humaner IgG Antikörper gegen *Coxiella burnetii*

In-vitro-Diagnostikum



1135 E. Truslow Avenue
Fullerton, California 92831 USA
Phone: +1-714-525-7660
Fax +1-714-525-7614
E-Mail: info@fullerlabs.com
URL: www.fullerlabs.com



MediMark Europe Sarl
11, rue Émile Zola – BP 2332
F-38033 Grenoble Cedex 2 – Frankreich

VERWENDUNGSZWECK

Der Q-Fieber Immunfluoreszenz-Antikörper (IFA) IgG Test ist zum semi-quantitativen Nachweis humaner IgG-Antikörper gegen Phase I und II-Antigene von *Coxiella burnetii* und als *in vitro* Unterstützung bei der Diagnose von Q-Fieber bestimmt.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Coxiella burnetii, ist ein obligater, intrazellulärer Organismus (Familie der *Rickettsien*) mit weltweiter Verbreitung. Menschen werden häufig über das Aerosol angesteckt, das durch angesteckt, Gebärendiere erzeugt wird. Inhalierter Organismen verbreiten körperlich vom Lungenflügel und produzieren Q Fieber, eine langsam abebende Krankheit, die nah Grippe nachahmt. Chronische Krankheit tritt in ungefähr 5% dieser Fälle, hauptsächlich in Form von chronischer granulomatous Hepatitis oder, kleiner häufig, als Endokarditis auf.

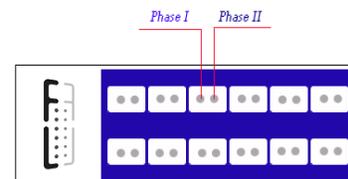
Wegen des Mangels an charakteristischen Symptomen in der akuten Krankheit, und die Laborgefahren, die in Lokalisierung mit einbezogen werden, versucht, sind serologic Verfahren die Primärerergänzung zur klinischen Geschichte in der Diagnose gewesen. Der IFA Test verwendet die einzigartige Phase Veränderung, die im *C. burnetii* gefunden wird, um die akute Antwort von den genesenden und chronischen Antikörperantworten zu unterscheiden. Verdünnungen des geduldigen Serums werden gleichzeitig mit Phase I und Phase II Organismus in jedem Diabrunnen reagiert. Nachdem man, zum der ohne Reaktion Serumproteine zu entfernen gewaschen hat, wird die spezifische Reaktion mit Kategorie-spezifischem Leuchtstoffparonym des Immunoglobulins beschriftet. Die resultierenden Reaktionen werden mit Standardfluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht, in der eine positive Reaktion gesehen wird, wie scharf definierte apfelgrüne Leuchtstoff grundlegende Körper innerhalb eines Rotes Feld des Eidotterbeutels sonorisieren counterstained. Solche positive Reaktionen können an den höheren Verdünnungen dann erneut getestet werden, um die höchste reagierende oder Endpunktverdünnung festzustellen.

INHALT DES TESTBESTECKS

IFA Ag x 12

Substratobjektträger (10)

Zehn Objektträger mit jeweils zwölf Reactionfeldern, die *Coxiella burnetii*, mit Phase I und Phase II.. Das Formalin-getötete Substrat ist Azeton-örtlich festgelegt und unter Vakuum verpackt.



CONJ FITC

IgG Konjugat, 2.5 mL

Tropferflasche mit gelbem Verschluss enthält s Anti-Human-IgG-DyLight 488 Konjugat in proteinhaltiger Puffer-lösung, mit Evans Blau Gegenfärbung.

CONT +

Positive Kontrolle, 0.5 mL

Tropferflasche mit blauem Verschluss enthält reactivities gebrauchsfertig Humanserum, bei 1:16 Abschirmungsverdünnung.

CONT -

Negative Kontrolle, 0.5 mL

Tropferflasche mit rotem Verschluss enthält nicht-reactives Humaneserum, bei 1:16 Abschirmungsverdünnung.

SAMP DIL**IgG Verdünnungspuffer, 15 mL**

Verdünnungspuffer enthält Ziegen Serum in PBS.

MM**Eindeckmedium, 1 mL**

Tropferflasche enthält 50% Ölsüß in PBS

BUF WASH PBS**PBS, 1 liter**

Fügen Sie 1 Litern geliefertes Pulver hinzu, reinigte Wasser, um gepuffert bei pH-Wert 7.2 zu produzieren

Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Alle Reagenzien dieses Testbestecks, die humanen Ursprungs sind, ergaben bei der Prüfung auf HCV, HbsAg bzw. Antikörper gegen HIV I/II-Virus ein negatives Ergebnis. Trotzdem kann das Vorhandensein solcher infektiöser Erreger nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden. Die Reagenzien sollten deshalb wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Objektträgern sind mit chemische desaktivierten Antigenen bereit. Die Objektträgern sollten deshalb wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Dieser Kit ist lediglich zum in-vitro-Gebrauch bestimmt.
- Einige der Reagenzien enthalten als Konservierungsmittel Thimerosal, deshalb ist ein Verschlucken und Berühren mit der Haut zu vermeiden.
- Benutzen Sie keine Bestandteile jenseits der Gültigkeitsdaten.
- Konjugat ist lichtempfindlich und wird in undurchsichtige Plastik abgefüllt. Lad in der Dunkelheit und der Rückkehr zu Lagerung nach der Verwendung.
- Konjugat enthält Evans' BlauFarbstoff, der vielleicht krebserregend ist. Vermeiden Sie Kontakt mit Haut.

Lagerung und Stabilität der Reagenzien

Die Reagenzien bei 2–8°C lagern. Die Haltbarkeit ist für alle Reagenzien den Etiketten zu entnehmen.

Nicht verwendete Objektträgern sollten dicht in der Folie verschlossen mit Trockenmittel bei 2–8°C gelagert werden. Die Beschichtung ist unter diesen Lagerbedingungen für 2 Monate stabil.

Vor Gebrauch sind die Reagenzien auf Raumtemperatur (20–25 °C) zu bringen und sorgfältig zu mischen. Für das Pipettieren sind Pipettenspitzen aus Kunststoff zu verwenden.

PROBENGEWINNUNG UND AUFBEWAHRUNG

Es ist keine besondere Probenvorbereitung erforderlich. Serum- bzw. Plasmaproben (EDTA, Heparin) können verwendet werden. Die Proben können 5 Tage bei 2–8°C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung Proben sofort nach Entnahme in Aliquots aufteilen und bei –20°C einfrieren.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen in vermeiden! Aufgetaute Proben sollten vor der Verwendung im Test gemischt (Votex) werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Genügende Materialien werden für 120 Entschlossenheiten geliefert.

Erforderliche Laborgeräte und Hilfsmittel (nicht im Kit enthalten):

- Aqua dest.
- Wäschenflaschen für PBS
- Präzisionspipetten
- Bereitstellung von Reagentgläsern zur Serenverdünnung
- 24 x 50 mm Deckgläschen
- Fluoreszenzmikroskop mit Filtersystem für FITC (maximal Begeisterungswellenlänge 490 nm, mittlere Emissionswellenlänge 530 nm) und 200X Vergrößerung.
- 37°C-Brutschrank

- feuchter Kammer

Precautions

- Alle Komponenten sind stabil bis zum Monatsende des Verfalldatums bei einer Lagerung bei +2 bis +8 °C.
- Testausrüstung und deren Bestandteile nur bis Ablauf des Verfalldatums verwenden.
- Reagenzien während der Lagerung oder Inkubation vor starkem Lichteinfall schützen.

Vorbereitung der Proben und Reagenzien

1. Objektträger und Kontrollen aus dem Kühlschrank nehmen und auf Raumtemperatur erwärmen. Folie an der Seite einreißen, Objektträger entnehmen und Mattfeld beschriften.
2. Patientenserum 1:16 mit IgG Verdünnungspuffer verdünnen.
3. Der Positiv-Kontrolle und Gegebenfalls mit PBS weitertitrieren. Bereiten Sie Verdünnungen der Positiv-Kontrolle bei 1:40, 1:80 und 1:160 vor. Bemerken Sie, daß diese Kontrollen bei 1:16 Verdünnungen abgefüllt werden,

Testdurchführen

1. 15 µL verdünnte Patientenserum auf die Antigenfeldern pipettieren.
2. Für jede Probenlauf schließt die Negativ-Kontrolle ein, und Verdünnungen der Positiv-Kontrolle bereitensich ober vor.
3. Objektträger in feuchter Kammer für 30 Minuten im Brutschrank bei 37°C inkubieren.
4. Objektträger aus der Kammer nehmen. Spülen Sie Objektträger von einer Wäschenflasche mit einem sanften Strom von PBS. Schüttelnflüssigkeit von Objektträger in ein Spülbecken und eine Wiederholung dies spült zwei weitere Male
5. Zu jedem Objektträgerfeld fügen 1 Tropfen (15 µL) Konjugat hinzu, bringen Sie dann Objektträger zu feuchter Kammer für 30 Minuten in der Dunkelheit bei 37°C zurück (das lichtempfindliche Konjugat zu schützen).
6. Waschen Sie Objektträger wie in Schritt 4, über.
7. Fügen Sie jedem Objektträger 2-3 Tropfen von Eindeckmittel hinzu und setzen Sie Deckgläschen darauf.
8. Reaktionsfelder bei 400-facher Vergrößerung mit einem Fluoreszenzmikroskop untersuchen, beim Vergleichen jedes Brunnens mit der visuellen Intensität und dem Aussehen der Positiven und Negativen Kontrollfelder, für jedes Feld. Objektträger werden vielleicht für bis zu 24 Stunden bei 2-8°C in der Dunkelheit gelagert.

Liegt das beschichtete Ende des Objektträgers auf der linken Seite, erscheinen die Antigenreaktionsfelder **beim Blick durch das Mikroskop** wie folgt.

Phase II

Phase I

9. Für optimale Fluoreszenz, die Objektträger am selben Tag untersuchen; ansonsten im Dunkeln bei +2 bis +8 °C aufbewahren.

QUALITÄTSKONTROLLE

Jedesmal, wenn ein oder mehrere Objektträger benutzt werden, sollten sowohl Positive als auch Negative Kontrollen enthalten sein. Der Endtiter der Positive Kontrolle sollte sowohl auf Phase I als auch auf Phase II Organismen bei einer Verdünnung von 1:8 der Lösung in der Flasche liegen. Je nach Laborbedingungen bzw. technischer Ausstattung kann der Endpunkt zwischen einer Verdünnung von 1:4 und 1:16 der Lösung in der Flasche liegen. Nach Verdünnung der Positivkontrolle können die Phase I und II Organismen veränderte Fluoreszenzintensitäten und unterschiedliche Endtiter aufweisen. Die Negative Kontrolle sollte auf keinem der beiden Antigenreaktionsfelder Fluoreszenz aufweisen. Weichen die Ergebnisse der Kontrollen von diesen Angaben ab, sollten die Patiententests als ungültig betrachtet und der Test wiederholt werden.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

Eine positive Reaktion scheint, wie das helle Beflecken (mindestens 1+) der grundlegenden Körper gegen einen Hintergrund des Rotes Gegenfärbelösung. Die Teilchengröße, das Aussehen und die Dichte der Felder müssen mit den Positiven und Negativen Steuerreaktionen verglichen werden. Die Muster der Reaktivität unterschiedlich als das, das in die positive Steuerung gesehen wird, müssen als unspezifisch gelten.

PATIENTENPROBENERGEBNISSE

≥1:16: IgG Titer von 1:16 und grösseres gegen Phase II reflektiert Infektion zu einer unbestimmten Zeit (seropositiv). Titer gegen Phase I Organismus sollten von den gleichen oder höheren Titern gegen Phase II Organismus in den meisten Fällen begleitet werden. Positive Seren sollten wieder laufen gelassen werden, um ihren Endpunkttiter für Vergleich mit den früheren oder neueren Probestücken vom gleichen Patienten festzustellen.

<1:16: Berichten Sie als Negativ für *Coxiella burneti* Antikörper. Weitere Serumprobestücke sollten gezeichnet werden, wenn die Vorlage sofort Pfortenangriff von Symptomen genommen wurde, besonders wenn antibiotische Therapie eingeleitet wurde

EINSCHRÄNKUNGEN

Der Phase II Organismus zeigt IgG Fc-Empfänger auf seiner Zelle Membrane an. Das IgG Beispielverdünnungsmittel soll die Empfänger mit irrelevantem (Ziege) IgG sättigen, dadurch erlaubt man eine spezifische IgG Reaktion mit dem menschlichen Serumprobestück. Erhöhte Serum IgG Niveaus können zu niedrige unspezifische Titer sogar in Anwesenheit des speziellen Verdünnungsmittels führen, obgleich sie spezifisch mit dem Phase II Organismus verbunden SIND und nicht von IgM oder von den IgA Titern begleitet werden

ZU ERWARTENDE BEFUNDE

Das Vorherrschen der spezifischen Antikörper verändert das Abhängen nach der geographischen Region und der Bevölkerung, die geprüft wird. Phase II IgG Titer sind im Allgemeinen innerhalb der ersten Woche nachweisbar, die Angriff und Spitze um die achte Woche folgt. Die beträchtliche Majorität der akuten Q Fieberfälle sind noch Positiv für Phase II IgG nach 1 Jahr. Teilen Sie I IgG Titer, im Gegensatz zu Phase II ein, seien Sie häufig unterhalb der nachweisbaren Niveaus, es sei denn chronische Krankheit sich entwickelt. Chronische Hepatitis wird bis zum hoher und gleichwertiger Phase I und II Titer gekennzeichnet, während Endokarditis häufig höhere Phase I Titer hat. IgM und IgA können Titer zu diesen Antigenen in der differentialen Diagnose nützlich auch sein.

LITERATUR

Peacock MG, Philip RN, Williams JC, Faulkner RS. Serological Evaluation of Q Fever in Humans. *Infect. Immun.* 1983;41: 1089-1098.

Revised 7/99