

## GEBRAUCHSANLEITUNG

### EIA-IgG-Antikörper-Kit für *Rickettsia typhi*

Bestellnummer: RTG-96K  
Format: 96 Tests  
(12 x 8 Kavitäten)  
Aufbewahrung: 2 – 8 °C

Ein indirekter Enzymimmunoassay für den Nachweis und die quantitative Bestimmung von Antikörpern der IgG-Klasse gegen *Rickettsia typhi* in Humanserum bzw. -plasma.

#### In-vitro-Diagnostikum



1135 E. Truslow Avenue  
Fullerton, California 92831 USA  
Tel.: +1 714 525 7660  
Fax +1 714 525 7614  
E-Mail: info@fullerlabs.com  
[www.fullerlabs.com](http://www.fullerlabs.com)



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

## VERWENDUNGSZWECK

Der IgG-Antikörper-Kit für *Rickettsia typhi* ist für den Nachweis und die Quantifizierung von menschlichen Antikörpern der IgG-Klasse gegen *Rickettsia typhi* gedacht und soll die Diagnose menschlicher Infektionen durch diesen Krankheitserreger unterstützen.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

*Rickettsia typhi* kommen weltweit vor und werden im Kot infizierter Flöhe übertragen. Bei der anschließenden Infektion kommt es zu einer spezifischen Antikörperreaktion, die nachgewiesen und als indirektes Mittel zur Identifizierung von infizierten Personen genutzt werden kann.

Die Kavitäten des EIA-Moduls dieses Kits sind mit nativen Antigenen der äußeren Membran von *Rickettsia typhi* beschichtet. Die Patientenserum werden in Probenpuffer verdünnt und in den beschichteten Kavitäten inkubiert, damit gegebenenfalls im Serum vorhandene Antikörper mit den Festphasen-Antigenen reagieren können. Anschließend werden die Kavitäten gewaschen, um nicht gebundene Serumproteine zu entfernen, und enzymmarkierte Anti-Human-IgG-Antikörper (Konjugat) zugegeben, um die gebundenen Antikörper zu markieren. Nach erneuter Inkubation werden die Kavitäten nochmals gewaschen, um ungebundenes Konjugat zu entfernen. Zur Quantifizierung des gebundenen Merrettichperoxidase (Horseradish Peroxidase, HRP)-Enzyms wird ein Enzymsubstrat mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) als Chromogen (TMB-Substrat) verwendet, wobei die Tiefe der blauen Farbentwicklung proportional zur Menge an spezifischem Antikörper ist. Diese Reaktion wird mit einer StoppLösung unterbrochen und stabilisiert, wobei die blaue Färbung in eine gelbe umschlägt. Die Farbintensität (Extinktion) wird bei einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt und dazu benutzt, die Serumreaktivität im Vergleich zu Referenzserum quantitativ zu bestimmen.

## INHALT DES TESTBESTECKS

**MW Ag**

### EIA-Modul mit 96 Vertiefungen

12 Streifen à 8 Vertiefungen, mit *Rickettsia typhi*-Antigenen beschichtet und zusammen mit Trockenmittel verpackt, gebrauchsfertig.

**SAMP DIL**

### Probenverdünnungsmittel, 20 X 50 ml

PBS mit Rinderserumalbumin und Tween 20.

**CONJ ENZ**

### IgG-HRP-Konjugat, 12 ml

Die braune Flasche enthält affinitätsgereinigte, mit HRP markierte Ziegen-Anti-Human-IgG-Antikörper (spezifisch gegen die schweren Ketten) in Arbeitslösungskonzentration.

**CONT +**

### Positive Kontrolle, 120 µl

Humanserum, reaktiv auf *Rickettsia typhi*, vor Gebrauch nach Anweisung zu verdünnen.

**CAL ±**

### Cutoff-Kalibrator, 120 µl

Humanserum, schwach reaktiv auf *Rickettsia typhi*, vor Gebrauch nach Anweisung zu verdünnen.

**CONT -****Negative Kontrolle, 120 µl**

Humanserum, nicht reaktiv auf *Rickettsia typhi*, vor Gebrauch nach Anweisung zu verdünnen.

**SUBS TMB****TMB-Substrat, 12 ml**

Eine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> als Substrat sowie 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) enthaltende Lösung in einer braunen Flasche. Gebrauchsfertig. Vor Licht schützen.

**SOLN STOP****Stopplösung, 12 ml**

Verdünte Schwefelsäure, gebrauchsfertig.

**BUF WASH PBS****PBS-Lösung, 1 Liter**

Zur Herstellung einer phosphatgepufferten Kochsalzlösung mit dem pH-Wert 7,2 das bereitgestellte Pulver in 1 Liter reinem Wasser auflösen. Zur Herstellung des Waschpuffers: Abschnitt „**Reagenzienvorbereitung**“

**BUF WASH TWEEN****Tween 20, 2 ml**

Zur Herstellung des Waschpuffers: Abschnitt „**Reagenzienvorbereitung**“.

**Warnhinweise**

1. Die Kontrollseren wurden mit den von der FDA geforderten Reihenuntersuchungen auf das Vorhandensein von Krankheitserregern geprüft. Es gibt allerdings keine Tests, die die Abwesenheit von Krankheitserregern sicherstellen könnten. Daher sind diese Reagenzien sowie alle Seren und Gerätschaften, die mit diesen Proben in Kontakt kommen, entsprechend den GLP-Vorschriften zu handhaben, um Hautkontakt bzw. Verschlucken zu vermeiden.
2. Zur Herstellung der beschichteten Kavitäten werden inaktivierte Antigenen herangezogen. Dennoch sollten sie als potentiell infektiös angesehen und entsprechend gehandhabt werden.

**Aufbewahrung und Handhabung**

Die Kit-Komponenten bei 2 – 8 °C aufbewahren. Vor dem Öffnen der Flaschen und Plattenbeutel diese zunächst auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) bringen. Nicht gebrauchte Teststreifen zusammen mit dem Trockenmittel in den wieder gut verschlossenen Beuteln aufbewahren. Die Beschichtung ist unter diesen Lagerbedingungen für 3 Monate stabil.

**PROBENENTNAHME**

Blutproben koagulieren lassen und die Seren durch Zentrifugieren abtrennen. Die Seren anschließend auf aseptische Weise in dicht schließende sterile Behälter überführen. Bei 2 – 8 °C aufbewahren. Wenn die Tests nicht innerhalb von 5 Tagen durchgeführt werden können, die Proben bei -20 °C oder kälteren Temperaturen aufbewahren. Akut-Proben sind bei Krankheitsbeginn zu entnehmen und Rekonvaleszenz-Proben zur Feststellung von Titeränderungen in Intervallen von zwei bis vier Wochen.

**PROBEN- UND REAGENZIENVORBEREITUNG**

1. **Zur Herstellung des Waschpuffers** den Inhalt (2 ml) der Tween 20-Flasche in 1 Liter PBS-Lösung geben und gut mischen.
2. **Alle Patienten-Serumproben** und alle vier (4) Kontroll-/Kalibratorseren **mit der Probenverdünnungsmittel im Verhältnis 1:100 verdünnen.**

**VERFAHREN**

Der Kit enthält genügend Reagenzien und Materialien für 96 Bestimmungen.

**Erforderliche, aber nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien**

1. Reines (destilliertes oder deionisiertes) Wasser
2. Waschflaschen bzw. EIA-Waschautomat
3. Probenröhrchen oder Verdünnungsautomat für 1:100-Verdünnungen
4. Präzisionspipetten für den Mikroliterbereich
5. Deckel oder Feuchtkammer für die Inkubationsschritte
6. EIA-Lesegerät mit 450-nm-Filter

**Vorsichtsmassnahmen**

1. Keine Komponenten nach deren Verfallsdatum verwenden.
2. TMB-Substrat und Konjugat sind lichtempfindlich und werden lichtgeschützt in braunen Flaschen geliefert. Im Dunkeln aufbewahren und nach Gebrauch sofort wieder an den Aufbewahrungsort zurückbringen.
3. Die flüssigen Reagenzien enthalten 0,01 % Thimerosal, das bei Verschlucken evtl. toxisch ist.
4. Die Stopplösung enthält 0,2 N Schwefelsäure. Sollte diese Säure mit der Haut in Berührung kommen, sofort mit viel Wasser abwaschen und einen Arzt konsultieren.

**ASSAY-VERFAHREN**

**Vor Beginn dieses Verfahrens alle Reagenzien Raumtemperatur (20 – 25 °C) annehmen lassen.**

1. Von jeder Serumverdünnung 100 µl in wenigstens eine Kavität pipettieren. Bei jedem Assay-Durchgang wenigstens je 1 Kavität mit Positiver Kontrolle und negativer Kontrolle mitführen. Für die **Cutoff-Kalibrator** wenigstens 3 Kavitäten benutzen (Dreifachanalyse).
2. Die Kavitäten abdecken, um die Verdunstung so gering wie möglich zu halten, und 60 Minuten bei Raumtemperatur (20 – 25 °C) inkubieren.
3. Die Platten 4-mal mit einem schwachen Strahl Waschpuffer aus einer Waschflasche bzw. mit einem Mikrotiterplatten-EIA-Waschautomaten waschen. Restlichen Waschpuffer durch Aufklopfen auf einen Stapel Papier-handtücher entfernen.
4. In jede Kavität 100 µl Konjugat-Arbeitslösung geben. Platte abdecken und 30 Minuten bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren.
5. Kavitäten waschen, wie in Schritt 3 oben beschrieben.
6. Zu jeder Kavität in regelmäßigen Abständen (nach der Uhr) 50 µl TMB-Substrat geben und genau 10 Minuten im Dunkeln reagieren lassen.
7. Die Reaktion in denselben regelmäßigen Abständen wie oben durch Zugabe von 100 µl Stopplösung stoppen.
8. Die Extinktionswerte mit einem Mikrotiterplatten-Lesegerät mit 450-nm-Filter bestimmen.

### **QUALITÄTSKONTROLLE**

Im Lieferumfang enthalten ist einer Cutoff-Kalibrator zur Differenzierung zwischen reaktiven und nicht-reaktiven Seren. Die Extinktionswerte (OD) der Testseren werden durch den mittleren Extinktionswert (OD) der Kavitäten mit den Cutoff-Kalibrator dividiert. So wird eine Indexzahl erhalten, wobei die Indexzahl für der Cutoff-Kalibrator gleich 1,0 ist. Indexzahlen im Bereich von 0,9 bis 1,1 sind nicht eindeutig. Indexzahlen über 1,1 werden als positiv gewertet und solche unter 0,9 als negativ.

Falls einer der Kontrollwerte außerhalb dieser Bereiche liegt, sollten dieser Assay-Durchgang als ungültig angesehen, die Reagenzienkomponenten und Verfahrensschritte überprüft und der Assay von Anfang an wiederholt werden.

### **EINSCHRÄNKUNGEN**

Dieses Verfahren dient zum Nachweis von gruppenspezifischen Antikörpern und kann daher nicht zwischen einzelnen Angehörigen Typhus-Gruppe differenzieren. Reaktivität auf die Fleckfieber-Gruppe oder Scrub-Typhus wird im Allgemeinen nicht nachgewiesen.

### **ZU ERWARTENDE BEFUNDE**

Das Vorherrschen der spezifischen Antikörper verändert das Abhängen nach der geographischen Region und der Bevölkerung, die geprüft wird.