

## Verwendungszweck

Der CellTrend anti-Angiotensin II-Rezeptor Typ 1-Antikörper-ELISA (ATR1-ELISA) ermöglicht die quantitative Bestimmung von Antikörpern des Typs IgG gegen den Angiotensin II-Rezeptor Subtyp 1 im Humanserum und -plasma. Dieser Marker spielt eine wichtige Rolle zur Differentialdiagnostik der Sclerodermie und zur Vorhersage vasculärer Abstoßungsreaktionen bei Organtransplantationen.

## Testprinzip

Der ATR1-ELISA ist ein Antikörper-Suchtest.

An der Mikrotiterplatte sind Angiotensin-Rezeptoren gebunden. Während der Inkubation werden die in den Proben vorhandenen anti-Angiotensin-Rezeptor-Antikörper an der Platte immobilisiert. Der Nachweis der gebundenen Antikörper erfolgt mit einem anti-human-IgG-Sekundärantikörper, der mit Peroxidase markiert ist. In der folgenden enzymatischen Substratreaktion bildet sich ein farbiges Produkt, dessen Farbintensität proportional der Konzentration und/oder Avidität der anti-Angiotensin-Rezeptor-Antikörper ist.

## Wichtige Hinweise

Testkit bei 2-8 °C lagern (Versand erfolgt bei Raumtemperatur).

Nur zur in-vitro Bestimmung.

Die Reagenzien nach dem Verfalldatum nicht mehr benutzen. Das Verfalldatum ist auf der Verpackung angegeben.

Vor Gebrauch diese Gebrauchsinformation sorgfältig durchlesen.

Die Testdurchführung muß durch ausgebildetes Fachpersonal erfolgen.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell verunreinigte Proben können zu unzuverlässigen Testergebnissen führen.

Nur Reagenzien einer Charge verwenden.









Die Reagenzien enthalten Konservierungsmittel, daher Berührung mit der Haut oder Schleimhaut vermeiden.

Die Standard- und Kontrollmaterialien dieses Tests wurden aus menschlichen Seren hergestellt, die auf Hepatitis B-Oberflächen Antigen (HB<sub>s</sub>Ag), Anti-HCV- und Anti-HIV 1/2-Antikörper getestet wurden und negativ waren.

Trotzdem sollten alle Reagenzien und Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Die Vorsichtsmaßnahmen zum Umgang mit infektiösem Material sind unbedingt einzuhalten.

Die Stopplösung **SOLN STOP** enthält Schwefelsäure. Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser abwaschen. Bei Kontakt mit den Augen sofort mit viel Wasser spülen und einen Arzt aufsuchen.

Symbols / Symbole / Symbôles / Simbolos / Simbolos / Simboli / Συμβολα

	Cat.-No.: / Kat.-Nr.: / No.- Cat.: / Cat.-No.: / N.º Cat.: / N.-Cat.: / Αριθμός-Κατ.:
	Lot-No.: / Chargen-Bez.: / No. Lot: / Lot-No.: / Lote N.º: / Lotto n.: / Αριθμός -Παραγωγή:
	Use by: / Verwendbar bis: / Utiliser à: / Usado por: / Usar até: / Da utilizzare entro: / Χρησιμοποιείται από:
	No. of Tests: / Kitgröße: / Nb. de Tests: / No. de Determ.: / N.º de Testes: / Quantità dei tests: / Αριθμός εξετάσεων:
	In Vitro Diagnostic Medical Device. / In-vitro-Diagnostikum. / Appareil Médical pour Diagnostics In Vitro. / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro. / Equipamento Médico de Diagnóstico In Vitro. / Dispositivo Medico Diagnostico In vitro. / Ιατρική συσκευή για In-Vitro .ιάγνωση.
	Read instructions before use. / Arbeitsanleitung lesen. / Lire la fiche technique avant emploi. / Lea las instrucciones antes de usar. / Ler as instruções antes de usar. / Leggere le istruzioni prima dell'uso. / .ιαβάστε τις οδηγίες πριν την χρήση.
	Store at: / Lagern bei: / Stocker à: / Almacene a: / Armazenar a: / Conservare a: / Αποθήκευση στους:
	Manufacturer: / Hersteller: / Fabricant: / Productor: / Fabricante: / Fabbricante: / Παραγωγός:

## Literatur

1. Reinsmoen NL, Lai C-H, Heidecke H, Haas M, Cao K, Ong G, Naim M, Wang Q, Mirocha J, Kahwaji J, Vo AA, Jordan SC, and Dragun D:  
*Anti-Angiotensin Type 1 Receptor Antibodies Associated With Antibody Mediated Rejection in Donor HLA Antibody Negative Patients.*  
Transplantation 2010;90: 1473–1477

2. Kelsch R, Everding AS, Kuwertz-Bröking E, Brand E, Spriewald BM, Sibrowski W, Konrad M, Dragun D:  
*Accelerated Kidney Transplant Rejection and Hypertensive Encephalopathy in a Pediatric Patient Associated With Antibodies Against Angiotensin Type 1 Receptor and HLA Class II.*  
Transplantation 2011 Nov 27;92(10):e57-9

## Gebrauchsinformation

**ELISA zur quantitativen Bestimmung von  
humanen anti-Angiotensin II-Rezeptor Typ 1-Antikörpern**

**REF 12000**



### **CellTrend GmbH**

Im Biotechnologiepark 3  
D-14943 Luckenwalde  
Tel.: 03371 / 6199 600  
FAX: 03371 / 6199 604  
Email: info@celltrend.de

## Testdurchführung

Wir empfehlen, alle Werte in Doppelbestimmungen durchzuführen.

1. Eine ausreichende Anzahl Mikrotiter-Module zum Ansatz von Standards, Kontrollen und Proben vorbereiten.
2. Je 100 µl der Serumverdünnungen, der Standardreihe, der Positivkontrolle, der Negativkontrolle und des Verdünnungspuffers (Leerwert) in die jeweiligen Wells pipettieren.
3. 2 Stunden bei 2-8 °C (Kühlschrank) inkubieren, die Wells dabei mit der Klebefolie abdecken.
4. Die Kavitäten durch Ausschlagen entleeren und 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen, Pufferreste durch Ausschlagen auf einer saugfähigen Unterlage entfernen.
5. 100 µl der Peroxidasekonjugatlösung in jede Kavität pipettieren.
6. 1 Stunde bei Raumtemperatur abgedeckt (Folie) mit Schütteln inkubieren.
7. Waschen wie bei 4. beschrieben.
8. Jeweils 100 µl TMB-Substratlösung **SUBS|TMB** in die Kavitäten pipettieren.
9. Die Mikrotiterplatte bei Raumtemperatur 20 Minuten im Dunkeln inkubieren.
10. 100 µl Stopplösung **SOLN|STOP** in jedes Well geben.
11. Messung der optischen Dichte im Photometer bei 450 nm (möglichst Messung mit einer Referenzwellenlänge von 620-690 nm).

Die Färbung der Lösung ist mindestens 30 Minuten stabil. In dieser Zeit sollte gemessen werden.

## Auswertung

Zur Auswertung dieses Tests ist eine Computer-ELISA-Software zur Kurvenanpassung der Standardpunkte hilfreich. Eine lineare Auftragung der Konzentrationen der Standards (2,5 U/ml, 5 U/ml, 10 U/ml, 20 U/ml, 40 U/ml) auf der x-Achse, die lineare Auftragung der Absorption (y-Achse) und eine 4-Parameter-Kurvenanpassung wird empfohlen.

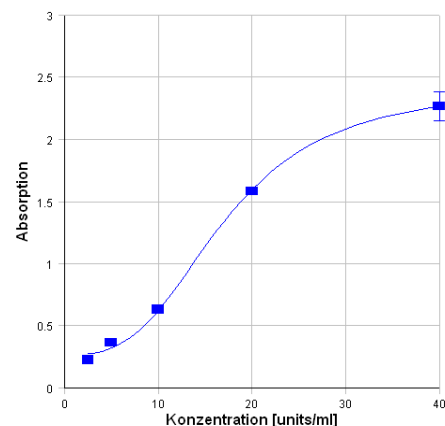
Der Test ist auswertbar, wenn die Positivkontrolle im angegebenen Bereich (siehe Flaschenetikett) und die Negativkontrolle unter dem cut off-Wert (10 U/ml) liegen. Die Eichpunkte müssen stetig ansteigen.

Der ATR1-Antikörper-Gehalt der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen. Proben >17 U/ml sind positiv, Proben 10-17 U/ml sind als erhöhtes Risiko zu bewerten (at risk), Proben <10 U/ml sind negativ. Liegen Messwerte oberhalb der Standardkurve, kann in einer nachfolgenden Bestimmung mit einer höheren Probenverdünnung (z. B. 1:500) ein geeigneter Messwert erzielt werden. Das Resultat in U/ml muß dann mit dem zusätzlichen Verdünnungsfaktor (z. B. 5) multipliziert werden.

Eine Therapieentscheidung sollte niemals nur auf einem Testergebnis beruhen. Das Ergebnis ist mit anderen klinischen Beobachtungen und diagnostischen Ergebnissen zusammen zu bewerten. Jede Einrichtung sollte seine eigenen Normwerte ermitteln.

## Testcharakteristik

- Typische Standardkurve



Diese Standardkurve ist nur zu Demonstrationszwecken abgebildet und darf nicht zur Auswertung verwendet werden. In jedem Lauf ist die Standardkurve mitzuführen.

- Intraassay-Variationskoeffizient (CV)

(n=10)

Probe 1 (21,4 U/ml): 3,9%

- Interassay-Variationskoeffizient (CV)

(n=20)

Probe 1 (22,9 U/ml): 5,1%

## Bestandteile der Testpackung:

			Packungsgröße	1x96 Best.
MTP			Mikrotiter-Module, Angiotensin II-Rezeptor Typ 1 beschichtet	12 x 8
BUF	WASH	10x	Waschpuffer, 10fach konz. ♦	50 ml
DIL	SPE		Proben-Verdünnungspuffer, gebrauchsfertig ♦	50 ml
DIL	CONJ		Konjugat-Verdünnungspuffer, gebrauchsfertig ♦	14 ml
CAL	1-5		Standards, gebrauchsfertig [2,5 - 5 - 10 - 20 - 40 U/ml] ♦	1 ml
CONTROL	+		Positivkontrolle, gebrauchsfertig ♦	1 ml
CONTROL	-		Negativkontrolle, gebrauchsfertig ♦	1 ml
CONJ	ENZ	100x	anti-human-IgG, Peroxidasekonjugat, 100fach konz. ♦	0,2 ml
SUBS	TMB		TMB-Substrat, gebrauchsfertig	12 ml
SOLN	STOP		Stopplösung, gebrauchsfertig (0,5 M Schwefelsäure)	12 ml

♦ : enthält ProClin 300

## Kurzanleitung:

### A. Vorbereitung

1. Reagenzien auf Raumtemperatur bringen
2. Waschpuffer 1:10 verdünnen
3. Serumproben 1:100 mit Proben-Verdünnungspuffer verdünnen
4. Peroxidasekonjugat frisch 1:100 mit Konjugat-Verdünnungspuffer verdünnen

### B. Durchführung

1. Je 100 µl verdünnte Probe/Standard/Negativkontrolle/Positivkontrolle pipettieren
2. 2 h bei 2-8 °C inkubieren
3. 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen
4. Je 100 µl Peroxidasekonjugat pipettieren
5. 1 h bei Raumtemperatur mit Schütteln inkubieren
6. 3 mal mit je 300 µl Waschpuffer waschen
7. 100 µl Substratlösung pipettieren
8. 20 min bei Raumtemperatur (im Dunkeln) inkubieren
9. 100 µl Stopplösung zugeben
10. Absorption bei 450 nm messen

## Zusätzlich erforderliche Chemikalien und Geräte

destilliertes oder deionisiertes Wasser  
 Meßzylinder  
 Mikropipetten (Mehrkanalpipette, Multipipette)  
 Wirbelmischer (Vortex)  
 Kühlschrank (2-8 °C)  
 Schüttler für Mikrotiterplatten  
 Mikrotiterplatten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm Wellenlänge

## Entsorgung

Die Entsorgung muß entsprechend den örtlichen Vorschriften erfolgen. Mit humanem Material kontaminierte Geräte und Lösungen müssen zur Beseitigung eines potentiellen Infektionsrisikos entsprechend behandelt werden.

## Probengewinnung und -lagerung

Serum oder Plasma soll nach der internen Methode gewonnen werden.

### Lagerung:

Bei Raumtemperatur bis zu 48 Stunden.

Bei 2-8 °C bis zu 4 Tagen

Langzeitlagerung bis zu 12 Monaten bei ≤ - 20 °C. Wiederholtes Einfrieren/Auftauen vermeiden.

## Vorbereitung der Reagenzien und Proben

- Vor Testbeginn alle Komponenten auf Raumtemperatur bringen, evtl. auskristallisierte Salze der Pufferkonzentrate in Lösung bringen.

- Die Kavitäten der Mikrotiter-Module **MTP** können durch Abbrechen genau dem Bedarf angepaßt werden. Nicht benutzte Module sind zusammen mit dem Trockenbeutel in der wiederverschließbaren Originalverpackung stets gut verschlossen bei 2-8 °C zu lagern und haltbar bis zum Verfalldatum des Testkits.

- Das Waschpuffer-Konzentrat **BUF WASH 10x** ist vor Gebrauch mit destilliertem Wasser **1:10** zu verdünnen (z. B. 50 ml + 450 ml Wasser). Die gebrauchsfertige Waschlösung ist bei 2-8 °C mindestens 30 Tage haltbar. Das Konzentrat ist nach Anbruch bis zum Verfalldatum des Testkits haltbar.

- Die humanen Serumproben sind **1:100** mit Proben-Verdünnungspuffer **DIL SPE** zu verdünnen. (z. B. 5 µl Serum + 495 µl Puffer). Die unverdünnten Seren können bei -20 °C aufbewahrt werden.

- Das Peroxidasekonjugat-Konzentrat **CONJ ENZ 100x** ist vor Gebrauch mit Konjugat-Verdünnungspuffer **DIL CONJ 1:100** zu verdünnen (z. B. 50 µl + 4950 µl Puffer). Die Konjugatlösung ist stets frisch anzusetzen. Das Konzentrat ist nach Anbruch bis zum Verfalldatum des Testkits haltbar.

- Die Standards **CAL 1-5**, die Positivkontrolle **CONTROL +**, die Negativkontrolle **CONTROL -**, der Proben-Verdünnungspuffer **DIL SPE** und der Konjugat-Verdünnungspuffer **DIL CONJ** sind gebrauchsfertig. Nach Anbruch sind sie bis zum Verfalldatum des Testkits haltbar.