

Verwendungszweck

Muskarinerge cholinerge Rezeptoren (mAChR) sind membranständige G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Es sind die Subtypen 1 bis 5 bekannt. Der CellTrend anti-muskarinerge Acetylcholin-Rezeptor 4-Antikörper-ELISA (anti-mAChR4) ermöglicht die quantitative Bestimmung von Antikörpern des Typs IgG gegen den mACh-Rezeptor Subtyp 4 im Humanserum für diagnostische Zwecke (CFS-Differentialdiagnostik).

Testprinzip

Der anti-mAChR4-ELISA ist ein Antikörper-Suchtest.

An der Mikrotiterplatte sind muskarinerge Acetylcholin-Rezeptoren Subtyp 4 gebunden. Während der Inkubation werden die in den Proben vorhandenen anti-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-mAChR4-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.

Wenn der Assay einmal begonnen wurde, darf das Protokoll nicht unterbrochen werden (Austrocknen der Wells vermeiden!).

Die Reagenzien enthalten Konservierungsmittel, daher Berührung mit der Haut oder Schleimhaut vermeiden. Bei Kontakt mit der Haut/Schleimhaut sofort mit viel Wasser spülen und gegebenenfalls einen Arzt aufsuchen.

Die Standard- und Kontrollmaterialien dieses Tests wurden aus menschlichen Seren hergestellt, die auf Hepatitis B-Oberflächen Antigen (HB_sAg), 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.

Zusätzlich erforderliche Chemikalien und Geräte

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

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.

- Das **Waschpuffer-Konzentrat** **BUF|WASH** **10x** ist vor Gebrauch mit deionisiertem Wasser **1:10** zu verdünnen (z. B. 50 ml + 450 ml Wasser). Die gebrauchsfertige Waschlösung ist bei 2-8 °C mindestens 30 Tage 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.

- Die **Standards** **CAL|1-5**, die **Kontrolle 1** **CONTROL|1**, die **Kontrolle 2** **CONTROL|2**, der Proben-Verdünnungspuffer **DIL|SPE** und der Konjugat-Verdünnungspuffer **DIL|CONJ** sind gebrauchsfertig. Nach Anbruch sind sie bis zum Verfalldatum des Testkits haltbar.

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 Kontrollen und des Proben-Verdünnungspuffers **DIL|SPE** (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 Kontrolle 1 und Kontrolle 2 im angegebenen Bereich liegt (siehe Flaschenetikett).

Proben sind positiv bei Werten > 10,7 U/ml oder negativ bei Werten < 10,7 U/ml.

Der mAChR4-Antikörper-Gehalt der Proben wird aus der Standardkurve abgelesen.

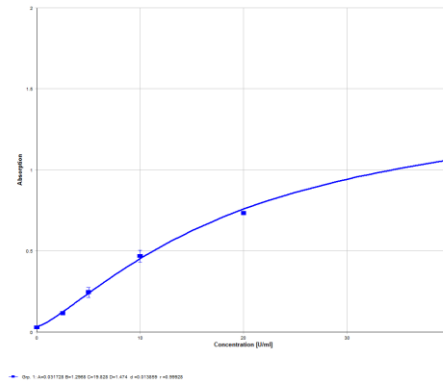
Liegen Messwerte oberhalb der Standardkurve, kann in einer nachfolgenden Bestimmung mit einer höheren Probenverdünnung (z. B. 1:500) ein geeigneter Messwert erzielt werden. Das Resultat in U/ml muß dann mit dem zusätzlichen Verdünnungsfaktor (z. B. 5) multipliziert werden.

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.

Version 02 02/2023

Testcharakteristik

- Typische Standardkurve



Diese Standardkurve ist nur zu Demonstrationszwecken abgebildet und darf nicht zur Auswertung verwendet werden.

- Intraassay-Variationskoeffizient (n=10)

Probe 1 (18,4 Units): 7,5%

- Interassay-Variationskoeffizient (n=10)

Probe 1 (35,8 Units): 10,7%

Gebrauchsinformation

EIA zur quantitativen Bestimmung von anti-muskarinerge Acetylcholin-Rezeptor 4-Antikörpern in humanem Serum

REF 15400



CellTrend GmbH

Im Biotechnologiepark
D-14943 Luckenwalde
Tel.: 03371 / 61 99 600
FAX: 03371 / 61 99 604
Email: info@celltrend.de

Bestandteile der Testpackung:

			Packungsgröße	1x96 Best.
MTP			Mikrotiter-Module, mAChR4-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	1		Kontrolle 1, gebrauchsfertig	1 ml
CONTROL	2		Kontrolle 2, 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/Kontrollen 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, eine Referenzmessung wird empfohlen

Bestandteile der Testpackung:

			Packungsgröße	1x96 Best.
MTP			Mikrotiter-Module, mAChR4-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	1		Kontrolle 1, gebrauchsfertig	1 ml
CONTROL	2		Kontrolle 2, 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/Kontrollen 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, eine Referenzmessung wird empfohlen

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: / Fabbicante: / Παραγωγός:

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: / Fabbicante: / Παραγωγός: