



VIR-ELISA ANTI - RUBELLA - IgG



1. INTENDED USE

Enzyme immunoassay for the quantitative determination of IgG-specific antibodies to Rubella virus in human serum and plasma.

IgG REF EG 126 V 96 IVD

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The detection of antibodies is based on the principle of an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The purified, homogeneous antigen is fixed to each well of the microtiterstrips. Any specific antibodies present in the patient's sample are bound during the first incubation. After removing unbound material by washing, the presence of specific antibodies is detected using Anti-human IgG conjugate during the second incubation.

Excess peroxidase conjugate is then removed and TMB substrate is added, resulting in the development of a blue colour. The enzyme reaction is terminated by the addition of a stop solution. The intensity of the yellow colour thus developed is proportional to the concentration of antibodies in the sample.

3. DIAGNOSTIC RELEVANCE AND INTERPRETATION OF RESULTS

Shortly after the viraemic phase (which lasts approx. 5-6 days) antibodies are generated. Acute infection results in high IgG as well as IgM antibodies. The detection of both antibodies in high concentration is possible for up to 8 weeks, then the level of antibodies falls. While IgM antibodies disappear generally, IgG antibodies persist life-long.

Following a Rubella immunisation the increase in antibody is significant, although the concentration of antibodies is generally lower than for an infection. Specific IgG antibodies can be detected for up to 15 years, IgM on average 8-12 weeks. In special cases, persisting IgM antibodies were found over several months. Serological findings in a Rubella virus infection are strongly dependent on the stage and duration of the clinical symptoms. A single antibody activity, even a high level activity, does not provide proof of a recent infection and cannot necessarily be equated with adequate immune protection. To obtain a final diagnosis the patient history and clinical symptoms should be taken into consideration.

IgG	IgM	Interpretation	Recommendation
-	-	no specific antibodies (Ab) detectable, however infection possible	By suspect of acute infection control tests are recommendable (after 7 days at the latest)
+	-	probable previous infection or vaccination, reinfection possible	Monitoring of IgG antibodies (Sample collection within 10-14 days), a significant increase of IgG Ab concentration in the absence of IgM Ab indicates a reinfection
-	+	primary infection probable	Monitoring of IgG and IgM Ab to determine seroconversion; supplementary tests e.g. IFA,CF, HAH and determination of the avidity of the IgG Ab.
+	+	acute infection probable, vaccination possible	Monitoring of IgG and IgM antibodies; supplementary tests e.g. IFA,CF, HAH and determination of the avidity of the IgG Ab

- negative, + positive

4. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Specificity / Sensitivity

307 samples were tested in parallel in VIR-ELISA ANTI-RUBELLA-IgG and comparison methods (ELISA). The specificity and sensitivity are based on the results found.

Specificity: IgG 97,7% **Sensitivity:** IgG 99,6%

For the calculation of the specificity and sensitivity of the ELISA test, equivocal results were defined as positive results. The results refer to the groups of samples investigated.

Precision and reproducibility

Intra-assay reproducibility was determined by testing samples of different levels of antibody activities for at least 22 times in one test run. The coefficient of variation (CV) of the reactive IgG samples was < 10%.

Inter-assay reproducibility was determined by testing samples of different levels of antibody activities in 10 different test runs. The CV of the reactive IgG samples was < 10%.

5. Bib

- Pustowitz, B. in T. Porstmann, Diagnostische Bibliothek, Vol.26 (1994) Blackwell Wissenschaftsverlag
- Selb, B.: Medizinische Virusdiagnostik (1992), Umschau Verlag, Frankfurt

6. KIT COMPONENTS

1. MICROTITERSTRIPS MTS

One microtiterplate is supplied which contains 12 microtiterstrips of 8 breakapart wells. The wells are coated with purified, inactive antigen. Strips are colour-coded.

2. PEROXIDASE CONJUGATE CONJPODIgG

One vial containing 12 ml of ready-to-use anti-human IgG Peroxidase conjugate. Peroxidase conjugate contains 0.049% Thimerosal as preservative.

3. NEGATIVE CONTROL CONTROL-

One vial of 1.2 ml containing human plasma with 0,095% sodium azide as preservative. Ready to use.

4. CALIBRATOR 1 CAL 1

One vial of 1.2 ml containing human plasma with 0,095% sodium azide as preservative. Ready to use. The unit value (I.U./ml) is reported on the label.

5. CALIBRATOR 2 CAL 2

One vial of 1.2 ml containing human plasma with 0,095% sodium azide as preservative. Ready to use. The unit value (I.U./ml) is reported on the label.

6. CALIBRATOR 3 CAL 3

One vial of 1.2 ml containing human plasma with 0,095% sodium azide as preservative. Ready to use. The unit value (I.U./ml) is reported on the label.

7. CALIBRATOR 4 CAL 4

One vial of 1.2 ml containing human plasma with 0,095% sodium azide as preservative. Ready to use. The unit value (I.U./ml) is reported on the label.

8. TMB SUBSTRATE SUBSTMB

One vial containing 13 ml of ready-to-use tetra-methylbenzidine (TMB) substrate.

9. SAMPLE DILUENT SPEDIL

One bottle containing 100 ml (or 2x50 ml) of ready-to-use sample diluent buffer. The buffer includes 0.049% Thimerosal as preservative.

10. WASH SOLUTION 25X WASHBUF25x

One bottle containing 80 ml (or 2x40 ml) of wash solution concentrate.

11. STOP SOLUTION SOLNSTOP

One bottle containing 15 ml of 0.95N H₂SO₄ stop solution. Ready-to-use.

12. PLASTIC BAG WITH DESICCANT

The safety data sheet (MSDS) is available upon request.

7. STORAGE AND STABILITY

Store all reagents at \pm 2-8°C. Protect them from intense light and do not freeze. The expiration date of each component is indicated on the respective vial label. Do not use reagents beyond the expiration date.

After opening, MTS must be stored at \pm 2-8°C in the plastic bag with desiccant and are stable up to 4 weeks.

The diluted WASHBUF is stable up to 4 weeks if stored at \pm 2-8°C.

Use only MTS with an intact vacuum packaging.

8.

MATERIALS AND EQUIPMENT REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Test tubes for sample dilution
- Timer
- Micropipettes, multipipettes 10-1000 µl
- One-litre graduated cylinder, distilled water
- ELISA washer or multichannel pipette
- Spectrophotometer for micro-plates (450-nm/ reference wavelength 630/620 nm)
- Paper towels, pipette tips

9. WARNINGS OR PRECAUTIONS

SAFETY PRECAUTIONS

The ELISA test is for **IVD** use only.

- Only qualified and well-trained employees should carry out the assay procedure.
- The instruction for use describes the applicable test method. In case of modification or applications others than the intended use, or the use of automatic processors, the user has to validate the procedure and take the responsibility for it.
- Do not mix lot specific reagents, such as **MTS**, **CONTROL** / calibrators and **CONJ****POD** from different kit lots. The **SUBS****TMB** must not be from the original test kit, but the lot of the **SUBS****TMB** must be the same as indicated on the kit label. The **SPE****DIL** (except Immunocapture assays), the **WASH****BUF****25x** and the **SOLN****STOP** can be used for all ELISA tests.
- Seal all bottles properly after use in order to avoid bacterial contamination. All samples and kit components should be considered potentially infectious. The **CONTROL** / calibrators have been tested for Hepatitis Bs antigen, anti-HIV I, anti-HIV II, anti-HCV (CE/FDA), and found to be negative.
- The **MTS** are coated with inactive antigen. However, normal laboratory precautions should be maintained when handling with infectious material. Do not pipette by mouth.
- Avoid contact with skin and mucous membranes when handling reagents, which contain preservatives (see kit contents). Wash thoroughly with water in case of contact and possibly look up a doctor.
- CONTROL** / calibrators containing sodium azide may react with lead and copper plumbing, building up explosive metal acids. Flush with sufficient water when disposing of reagents.
- The **SOLN****STOP** (0,95N H₂SO₄) contains sodium hydroxide which may irritate skin and mucous membranes. Wash thoroughly with water in case of contact.
- For disposal the legal regulations have to be followed.

10. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

- Microbial contaminated specimen may cause interferences.
- Lipaemic, hemolytic or icteric samples should only be tested with reservations although in our testing no negative influence has been found.
- Suitable specimens are serum or plasma (heparinized, EDTA) samples obtained by standard laboratory techniques.
- The samples should not be heat-inactivated since non-specific results may occur.
- For ethical reasons, the use of CSF samples was only evaluated by testing pairs of CSF and serum samples, distributed by the "WHO Collaborating Centre for Quality Assurance and Standardization in Laboratory Medicine" in Germany. Therefore the use of CSF samples should be proved by testing a sufficient number of samples.
- Patient samples should be stored at \pm 2-8°C.
For long term storage \pm -20°C or lower is recommended.
Avoid repeated freeze-thaw cycles.
- Note:** Diluted patient samples must be used on the same day.

11. ASSAY PROCEDURE

REAGENT PREPARATION

Bring all reagents to room temperature prior to use!

WASH**BUF**: Dilute the **WASH****BUF****25x** 1:25 with distilled water
e.g. add 40ml of **WASH****BUF****25x** to 960 ml distilled water and mix well.

Dilution of samples: Dilute patient samples 1:101 with **SPE****DIL** e.g.
10µl sample + 1ml **SPE****DIL**, mix thoroughly.

CONTROL / Calibrators are ready to use.

Note: To take into consideration pipetting time, it is recommended to repeat the Calibrator 1 after every 4 strips (or after a pipetting time of \geq 5 min) to evaluate the following patient's tests with the new calculated cut-off value.
In case of quantitative determination repeat calibrator 2 to 4 the same way Calibrator 1 was dispensed.

Take the required **MTS** out of the foil packets and place them in the holder. Possibly remaining wells of a **MTS** have to be stored at \pm 2-8°C tightly sealed in the plastic bag provided, with the desiccant inside.

12. PIPETTING AND INCUBATION STEPS

- Pipette 100µl of the negative control, of calibrator 1 – 4 and of each diluted patient sample into the wells. Pipette 100 µl of sample diluent into well A1 (Blank).
- Incubate the wells at room temperature (21-25°C) for 30 minutes, protected from intense light.
- Wash the wells four times as described in section k. **WASHING PROCEDURE**
- Add 100µl of ready-to-use peroxidase conjugate to each well.
- Incubate the wells at room temperature (21-25°C) for 30 minutes, protected from intense light.
- Repeat washing as in section C above.
- Add 100µl of ready-to-use TMB substrate to each well.
- Incubate the wells at room temperature (21-25°C), in the dark for 10 minutes
- Add 100µl of stop solution to each well. Tap gently to ensure homogenous colour distribution and read within 10 minutes.
- To read the plate, make sure that the bottom is free from moisture and that no air bubbles are in the wells. Read the absorbance of the well contents at 450nm on a suitable plate reader. On readers equipped with a dual wavelength facility set the reference filter to 620/630 nm.

ATTENTION:

The absorbance (OD) of the Blank must always subtracted from the OD values of the negative control, the calibrators and samples.

PROCEDURAL NOTES

Do not allow the wells to dry out between incubations.
Comply with the given incubation temperatures and times.

k. **WASHING PROCEDURE**

The washing procedure can be done manually with a multichannel pipette or on an automatic plate washer. Empty the wells, invert and tap dry on paper towel. Wash four times with a soaking time of approx. 30 seconds (300 µl).

13. SUGGESTIONS FOR TROUBLESHOOTING

In case that the ELISA instructions are followed strictly, the reagents are handled with care and the samples and reagents are pipetted carefully, the following kinds of errors can be avoided to a large extend.

ERROR	POSSIBLE CAUSES
No colorimetric reaction after addition TMB substrate	No Peroxidase conjugate dispensed, contamination of Peroxidase conjugate (possibly with control sera during pipetting) may cause an inactivation.
Generally too high reaction	Incorrect Peroxidase conjugate (i.e. not from original test kit), incubation time too long or incubation temperature too high, water quality for Washing Solution insufficient (low grade of deionisation)
Generally too weak reaction	Incorrect Peroxidase conjugate (i.e. not from original test kit), incubation time too short, incubation temperature too low
Reagent blank too high	Incorrect pipetting of sample diluent, contaminated reagents, reagents expired, exceeding of incubation time and temperature, external contamination of the bottom of microtiterstrips, (clean carefully!)
False positive / negative samples	Incorrect dilution of samples, microbial contaminated specimen
Unexplainable outliers	Contamination of pipettes, tips or containers or with metals (iron, copper etc.), insufficient washing
High variation (within a series)	Reagents (including microtiterstrips) not pre-warmed to room temperature prior to use. Washer is not washing correctly!
High variation (from series to series)	Incubation conditions not constant (time, temperature) high variation of incubation temperature, controls and samples are not carried out at same time (same intervals) check pipetting order, person related variation, strips dried out after washing (results are not reproducible).

14. VALIDITY OF THE ASSAY

CONTROL / calibrators should be carried out with every test run.

The test must comply with the following validation criteria:

- OD-value of the Negative Control should be < 0.100,
- OD-value of Calibrator 1 should be >0.200,
- Ratio of Calibrator 4 / cut-off value should be ≥ 3.5
- OD-value of the Blank should not be higher than 0.100.

If **CONTROL** /calibrators give invalid levels then results from the test samples are invalid too and retesting is required.

15. CALCULATION OF RESULTS

A QUALITATIVE CALCULATION

Calculation of "Cut-off Value"

Cut-off value = OD value of the **CAL1**

CUT-OFF RANGE = CUT-OFF VALUE \pm 10%

Interpretation of sample results:

RESULT	DEFINITION
negative -	OD value sample < Cut-off value -10%
equivocal	OD value sample \geq Cut-off value -10% OD value sample \leq Cut-off value +10%
positive +	OD value sample > Cut-off value +10%

Equivocal results should be retested. Following the confirmation of the equivocal result the monitoring of the patient's antibodies is recommended in order to exclude unspecific reactions, which may also cause equivocal results.

B CALCULATION OF RATIO (CUTOFF INDEX, COI):

Patient samples may also be quantified and interpreted by means of the calculation of the ratio (Cutoff Index, COI):

COI = OD value of sample/ Cut-off value,

whereby a ratio of 1.000 is equivalent to the Cut-off value.

Interpretation of sample results:

Ratio < 0,9 negative result
Ratio 0,9 - 1,1 equivocal result
Ratio > 1,1 positive result

C CALCULATION OF INTERNATIONAL UNITS (I.U.) QUANTITATIVE

A quantitative diagram is enclosed. The first point of the curve is obtained using the Cut-off value (y-axis) and the I.U. value given on the **CAL1** label as appropriate (x-axis). The remaining points of the curve are obtained from the absorbance of the **CAL2**, **CAL3**, **CAL4** (y-axis) and their I.U. (x-axis) as indicated on the label. The Standard curve is produced by drawing a straight line between the points. The I. U. (International Units) of the patient samples may be read from the curve. The graph is at least linear up to the I.U. of **CAL4**.

Note: Samples higher than **CAL4** should be diluted further with **SPE/DIL** according to the expected value. For the calculation of the results the dilution factor has to be considered.

The quantitative test results (I.U.) are based on the WHO International Standard for anti-Rubella Serum. Positive detection of virus-specific antibodies does not necessarily indicate the presence of adequate immunity. The internationally accepted cut-off level for rubella IgG-antibodies to be protective is 15 I.U./ml.

Determinations used to assess significant changes in activity should always be performed in the same run. In this case a difference of more than a factor of 2 is indicative of such a change. When comparing results from different runs, identical lots or reagent must be used. Under these conditions differences of more than a factor 3 indicate a significant change in activity.

Regarding diagnostic relevance and interpretation of results see page 1.

For further information please visit our website:
<http://www.viro-immun.de/>

Symbole nach IVD/ symbols used with IVD devices/ Symbole / Símbolos/ Simboli/ Simbolos/ Symboly/ Címkékén/ Συμβολα IVD

MTS

Mikrotiterstreifen/ microtiterstrips/ Microplaques sensibilisées/ placa de microtítulo/ piasta microtítulo/ Tiras de microtitulação/ Mikrotitračni stripy/ Mikrotitercsikok/ Ταινίες μικροπιλοποίησης

SPE/DIL

Probenverdünnungspuffer/ dilution buffer/ Tampon de dilution/ reactivo compensador/ soluzione tampone/ estabilizador de diluição/ Redici roztok vzorku/ Mintahígító/ Αραιωτικό Δείγματος

WASHBUF25x

Waschlösung/ wash solution/ solution de lavage/ solución limpiadora/ soluzione lavaggio/ solução de lavagem Konzentrat/ concentrate / Concentré / concentrado/ concentrato/ concentrado 25x/ Promývaci roztok 25x/ Mosópuferkoncentrátum 25x/ Διάλυμα Πλύσης 25x

CONJ/PODIgG

Peroxidase-Konjugat / Peroxidase conjugate / Conjugue Peroxidase/Conjugado Peroxidasa / coniugato con perossidasi/ conjugado Peroxidase/ Peroxidázony konjugát / Peroxidáz Konjugátum/ Συζευγμένη υπεροξειδάση IgG

CAL1

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrator/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 1

CAL2

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrator/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 2

CAL3

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrator/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 3

CAL4

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrator/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 4

CONTROL-

Negative Kontrolle/ negative control/ Contrôle négatif/ control negativo/ controllo negativo/ controle negativo / Negativní kontrola/ Negatív Kontroll/ αρνητικός Μάρτυρας

SUBS/TMB

TMB-Substrat/ TMB substrate/ substrat TMB/ substrato TMB / TMB substrát / TMB Szubsztrát/ Υπόστρωμα TMB

SOLN/STOP

Stopplösung/ stop solution/ Solution d'arrêt/ solución de parada/ soluzione d'arresto/ solução de parada/ Stop pufr / Stop Oldat/ Διάλυμα Τερματισμού

Bib

Literatur/ Literature/ Littérature/ Bibliografia/ Bibliografía/ Literatura/ Irodalom/ Βιβλιογραφία

LOT

Charge/ lot/ Lot/ lote/ carcia/ lote/ Číslo šarže/ Lot Szám/ Αριθμός παρτίδας

IVD

In-vitro-Diagnostikum/ in vitro diagnostic/ Diagnostic in vitro/ diagnóstico in-vitro/ In-vitro diagnostic/ diagnóstico In-vitro/ In vitro diagnostikum /In Vitro Diagnosztikum/ Διαγνωστική ιατρική συσκευή In vitro

REF

Artikel Nr./ reference or order number/ Référence ou numéro de commande/ referencia o número de pedido/ codice di riferimento o di commissione/ referência ou número de encomenda/ Katalogové číslo/ Katalógusban Szereplő Kód/ Κωδικός Καταλόγου

96

96 Bestimmungen/ tests/ tests/ determinazioni/ testes / Počet testů/ Vizsgálatok Száma/ Αριθμός εξετάσεων

i

Gebrauchsanweisung beachten/ consult instructions for use/ consulter le mode d'emploi/consultar las instrucciones de uso/ consultare le istruzioni per l'uso/ consultar instruçõesde uso/ Přečtěte si Návod k použití/ Olvassa el a Használati Utasítást/ Δείτε Οδηγίες Χρήσεως

fl

Temperaturgrenzen/ temperature limitation/ Limites de température/ Limites de temperatura/ Limiti di temperatura/ Limites de temperatura/ Teplotní limity/ Hőmérsékleti Korlátozások/ Θερμοκρασιακά όρια

h

Verfallsdatum:/ expiry date/ date d'expiration/ Fecha de caducidad/ Data di decadenza/ Limite de validade/ Datum expirace/ Lejárati Idő/ Ημερομηνία λήξης (Χρήση έως ...)

ff

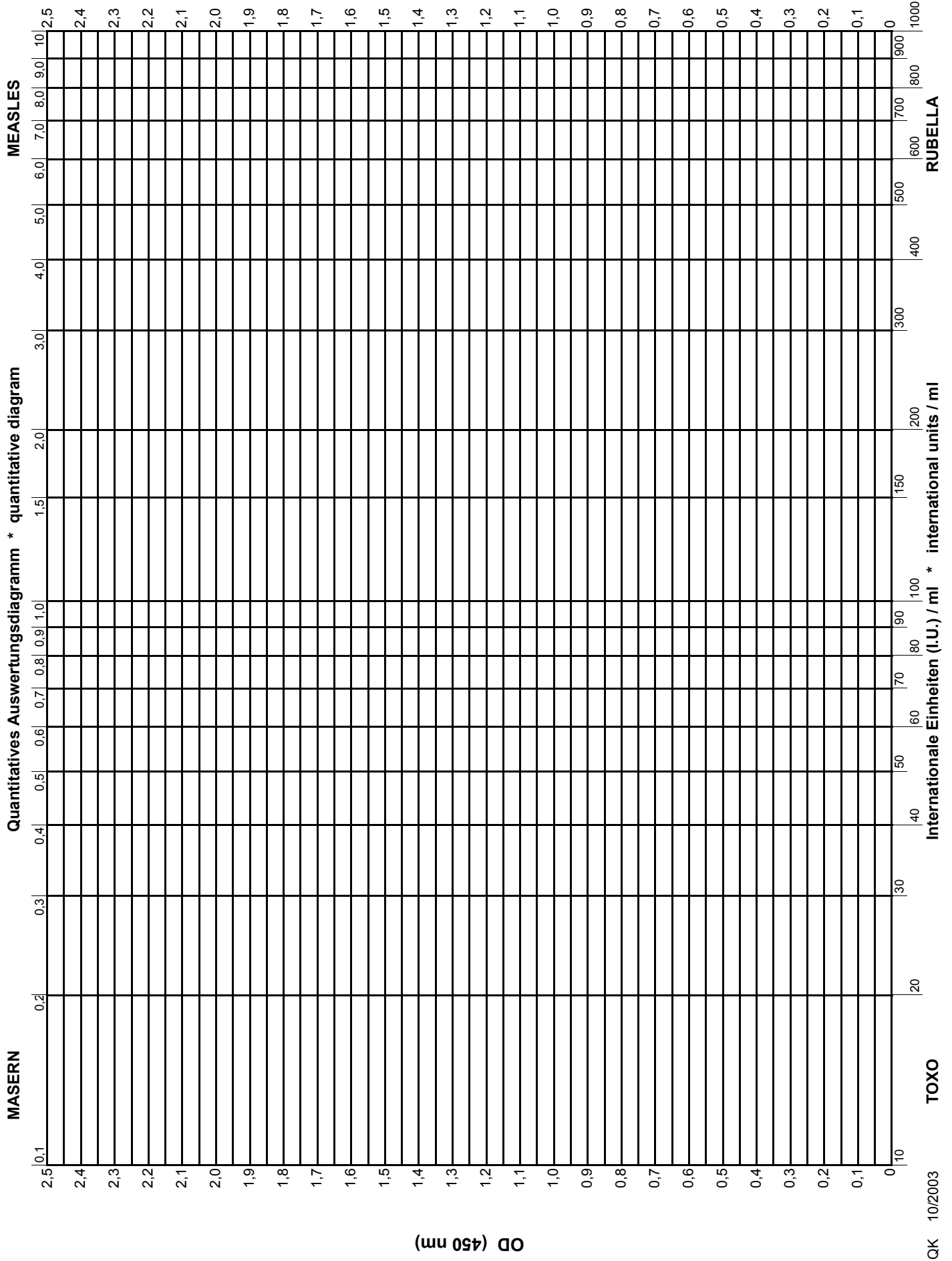
Hergestellt von/ manufactured from/ fabriqué par/ elaborado por/ fabbricato da/ produzido por/ Υρόβου/ Gyártó/ Κατασκευάζεται από...

CE

VIRO-IMMUN Labor-Diagnostika GmbH, In der Au 29, D-61440 Oberursel, Germany -Tel.: +49-6171-6281-00 - Fax: +49-6171-6281-12 email: info@viro-immun.de

CE 0123

ELISA-Test
Quantitatives Auswertungsdiagramm * quantitative diagram





VIR-ELISA ANTI - RUBELLA - IgG



1. VERWENDUNGSZWECK

Enzymimmunoassay für die quantitative Bestimmung von IgG-Antikörpern gegen Rubella-Virus in humanem Serum und Plasma

IgG [REF] EG 126 ▼ 96 [IVD]

2. TESTPRINZIP

Der Nachweis der Antikörper basiert auf dem Prinzip des Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Die Mikrotiterstreifen sind mit gereinigtem, homogenisiertem, inaktiviertem Antigen beschichtet. In der Untersuchungsprobe des Patienten vorhandene spezifische Antikörper werden an das Antigen gebunden. Nach sorgfältigem Waschkvorgang, bei dem alle nicht gebundenen Probenbestandteile entfernt werden, wird Anti-human-IgG-Peroxidase-Konjugat pipettiert, das sich an die bereits gebundenen Antikörper anlagert. Im Waschprozess wird überschüssiges Konjugat entfernt. Nach der Inkubation mit TMB-Substrat entsteht eine photometrisch messbare Enzym/ Substratreaktion (blaue Färbung), die durch Zugabe von Stopplösung (Farbumschlag zu gelber Färbung) gestoppt wird. Der gemessene Extinktionswert ist proportional der spezifischen Antikörperkonzentration in der Probe.

3. DIAGNOSTISCHE RELEVANZ UND INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Kurz nach der virämischen Phase (Dauer ca. 5-6 Tage) kommt es zur humoralen Antikörperantwort. Hohe **IgG- sowie IgM-Antikörperkonzentrationen** sind die Folge einer frischen Infektion. Der Nachweis von beiden Antikörpern in erhöhten Konzentrationen ist bis zu 8 Wochen möglich, dann sinkt der Antikörperspiegel allmählich ab. **IgM-Antikörper** verschwinden in der Regel, **IgG-Antikörper** persistieren lebenslang.

Bei einer Rötelnlebensimpfung kommt es zu signifikanten Konzentrationsanstiegen, sie sind jedoch prinzipiell niedriger als bei einer Infektion. Spezifische IgG-Antikörper bleiben bis zu 15 Jahren nachweisbar, IgM-Antikörper im Durchschnitt 8-12 Wochen. In Ausnahmefällen ist lang-persistierendes IgM über mehrere Monate gefunden worden.

Serologische Befunde bei einer Rubellavirus-Infektion sind vom Stadium der Erkrankung und der Dauer der klinischen Symptome stark abhängig. Eine bestimmte Antikörperkonzentration, gleich welcher Höhe, beweist keine frische Infektion und ist nicht unbedingt mit einem ausreichenden Infektionsschutz gleichzusetzen. Für eine endgültige Diagnose sollten neben der Serologie die Anamnese sowie das klinische Bild unbedingt hinzugezogen werden.

IgG	IgM	Interpretation	Empfehlung
-	-	keine Antikörper (Ak) nachweisbar	Bei Verdacht auf eine akute Infektion sollten weitere Untersuchungen folgen (spätestens nach 7 Tagen).
+	-	wahrscheinlich zurückliegende Infektion bzw. Impfung; Reinfektion möglich	Verlaufskontrolle der IgG-AK (Proben im Abstand von 10-14 Tagen gewonnen), ein signifikanter Konzentrationsanstieg bei fehlenden IgM-Ak lässt auf eine Reinfektion oder eine Impfung schließen
-	+	Erstinfektion wahrscheinlich	Verlaufskontrolle der IgG- und IgM-AK; Serokonversion der IgG-AK aufzeigen; Zusatzteste z.B. IFT, HAH-Antikörpernachweis, und Bestimmung der Avidität der IgG-AK
+	+	akute Infektion wahrscheinlich, Impfung möglich	Verlaufskontrolle: signifikanter Konzentrationsanstieg von IgG-AK aufzeigen; Zusatzteste z.B. IFT, HAH-Antikörpernachweis, und Bestimmung der Avidität der IgG-AK

- negativ, + positiv

4. TESTCHARACTERISTIKA

Spezifität / Sensitivität

Es wurden 307 Proben parallel im VIR-ELISA ANTI-RUBELLA-IgG und in Vergleichsmethoden (ELISA) getestet. Die Angaben zur Spezifität und Sensitivität des VIR-ELISA beziehen sich auf die gefundenen Testergebnisse.

Spezifität: IgG 97,7% **Sensitivität:** IgG 99,6%

Grenzwertige Proben wurden bei der Berechnung grundsätzlich als positiv bewertet. Die Berechnungen zur Bestimmung der **Spezifität** und Sensitivität beziehen sich nur auf die untersuchten Probenkollektive.

Präzision und Reproduzierbarkeit

Die intraserielle Präzision (Intraassay) wurde mittels unterschiedlich reaktiver Proben im Mehrfachansatz (n=22) innerhalb einer antigenbeschichteten Platte berechnet. Die ermittelten Variations-Koeffizienten (VK) der reaktiven Proben im IgG Test betragen < 10 %.

Für die Bestimmung der interseriellen Reproduzierbarkeit (Interassay) wurden unterschiedlich reaktive Proben in 10 unabhängig voneinander durchgeführten Testläufen angesetzt. Die ermittelten Variations-Koeffizienten (VK) der reaktiven Proben im IgG Test betragen < 10 %.

5. [Bib]

- Pustowitz, B. in T. Porstmann, Diagnostische Bibliothek, Vol.26 (1994) Blackwell Wissenschaftsverlag
- Selb, B.: Medizinische Virusdiagnostik (1992), Umschau Verlag, Frankfurt

6. KITKOMPONENTEN

1. MIKROTITERSTREIFEN [MTS]

Eine Mikrotiterplatte mit 12 Mikrotiterstreifen zu je 8 einzeln brechbaren Wells. Die Wells sind mit gereinigtem, inaktivem Antigen beschichtet. Die Streifen sind farbmarkiert.

2. PEROXIDASE KONJUGAT [CONJ][POD][IgG]

Ein Fläschchen (12 ml) Anti-human-IgG-Peroxidase-Konjugat mit 0,049 % Thimerosal als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig

3. NEGATIVE KONTROLLE [CONTROL-]

Ein Fläschchen (1,2 ml), Humanplasma, mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig.

4. CALIBRATOR 1 [CAL 1]

Ein Fläschchen (1,2 ml), Humanplasma, mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig. Der Unit-Wert (I.U./ml) ist auf dem Fläschchenetikett angegeben.

5. CALIBRATOR 2 [CAL 2]

Ein Fläschchen (1,2 ml), Humanplasma, mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig. Der Unit-Wert (I.U./ml) ist auf dem Fläschchenetikett angegeben.

6. CALIBRATOR 3 [CAL 3]

Ein Fläschchen (1,2 ml), Humanplasma, mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig. Der Unit-Wert (I.U./ml) ist auf dem Fläschchenetikett angegeben.

7. CALIBRATOR 4 [CAL 4]

Ein Fläschchen (1,2 ml), Humanplasma, mit 0,095 % Natriumazid als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig. Der Unit-Wert (I.U./ml) ist auf dem Fläschchenetikett angegeben.

8. TMB SUBSTRATLÖSUNG [SUBS][TMB]

Ein Fläschchen (13 ml) Tetra-Methylbenzidin-Substrat (TMB). Gebrauchsfertig.

9. PROBENVERDÜNNUNGSPUFFER [SPE][DIL]

Ein Fläschchen (100 ml) oder (2x50 ml) Probenverdünnungspuffer mit 0,049 % Thimerosal als Konservierungsmittel. Gebrauchsfertig.

10. WASCHLÖSUNG 25X [WASHBUF][25x]

Ein Fläschchen (80 ml) oder (2x40 ml) Waschlösungskonzentrat.

11. STOPPLÖSUNG [SOLN][STOP]

Ein Fläschchen (15 ml) mit 0,95 N H₂SO₄ Stopplösung. Gebrauchsfertig.

12. PLASTIKBEUTEL MIT TROCKENMITTEL

Das Sicherheitsdatenblatt (MSDS) ist auf Anfrage erhältlich.

7. LAGERUNG UND STABILITÄT

Alle Reagenzien sind bei 2-8°C zu lagern. Reagenzien nicht einfrieren sowie vor direkter Sonneneinstrahlung schützen. Die Haltbarkeit der Reagenzien ist auf den Etiketten angegeben, nach Verfallsdatum sind diese nicht mehr zu verwenden. Nach Öffnung sind die [MTS] bei 2-8°C in Gegenwart von Trockenmittel zu lagern und bis zu 4 Wochen haltbar. Die Gebrauchsverdünnung des [WASHBUF] ist bis zu 4 Wochen bei 2-8°C haltbar.

Nur [MTS] mit intakter Vakuumverpackung verwenden.

8. ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE MATERIALIEN

- Röhrchen für die Probenverdünnung
- Stoppuhr
- Mikropipetten, Multipipette 10-1000 µl
- Messzylinder für 1 L,
- Aqua dest.
- ELISA- Waschgerät oder Mehrkanalpipette
- Spektralphotometer für Mikrotiterplatten:
Wellenlänge 450 nm / Referenzwellenlänge 630/620nm
- Saugfähiges Papier, Einwegspitzen

9. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN SICHERHEITSHINWEISE

Der Test ist ausschließlich für **[IVD]** hergestellt.

- Die Testdurchführung muss durch ausgebildetes Fachpersonal erfolgen.
- Die Gebrauchsanweisung enthält die Angabe über die Testmethode. Eine Modifikation oder andere Anwendung sowie die Anwendung von automatischen Prozessoren müssen vom Anwender validiert werden und liegen in dessen Verantwortung.
- Chargenspezifische Reagenzien wie **[MTS]**, **[CONTROL]** / Calibratoren und **[CONJ|POD|IgG]** aus Kits unterschiedlicher Chargen nicht austauschen. **[SUBS|TMB]** muss chargenspezifisch, nicht aber kitspezifisch verwendet werden. **[SPE|DIL]** (außer Immunocaptureassays), **[WASHBUF|25x]** und **[SOLN|STOP]** können bei allen ELISA Testen chargen- und kitunabhängig verwendet werden.
- Alle Fläschchen nach Gebrauch gut verschließen, um eine bakterielle Kontamination zu vermeiden. Alle Patientenproben und Kontrollen müssen als potentiell infektiös angesehen und entsprechend behandelt werden. Die **[CONTROL]** / Calibratoren wurden auf HBs-Ag, HCV- und HIV I und II -AK getestet und für negativ befunden.
- Die **[MTS]** sind mit inaktiviertem Antigen beschichtet. Jedoch sollte auch hier auf die im Labor übliche Sorgfalt für das Arbeiten mit infektiösem Material geachtet werden. Nicht mit dem Mund pipettieren.
- Einige Reagenzien (siehe Kitinhalt) enthalten Konservierungsmittel. Der Kontakt mit Blei- und/ oder Kupferrohren explosive Metallazide, deshalb sollte bei deren Beseitigung mit reichlich Wasser nachgespült werden.
- Das in der **[CONTROL]** / den Calibratoren enthaltene Natriumazid bildet bei Kontakt mit Blei- und/ oder Kupferrohren explosive Metallazide, deshalb sollte bei deren Beseitigung mit reichlich Wasser nachgespült werden.
- Die **[SOLN|STOP]** (0,95 N H₂SO₄) ist eine ätzende Flüssigkeit. Bei Berührung mit der Haut sofort mit viel Wasser und Seife abwaschen.
- Zur Entsorgung sind die gesetzlichen Regelungen zu beachten.

10. PROBENGEWINNUNG- UND LAGERUNG

- Bakteriell verunreinigte Proben können zu unzuverlässigen Testergebnissen führen.
- Lipämische, hämolytische sowie ikterische Proben (Serum oder Plasma) sollten nur unter Vorbehalt eingesetzt werden, obwohl in unseren Untersuchungen kein negativer Einfluss festgestellt wurde.
- Serum- oder Plasma- (Heparin, EDTA) proben, die nach Standard-Labortechniken entnommen sind, sind zur Untersuchung geeignet.
- Hitzebehandelte Proben dürfen nicht verwendet werden.
- Die Verwendung von Liquor wurde aus ethischen Gründen nur an Ringversuchsmaterialien evaluiert. Die Verwendung sollte mit einer ausreichenden Anzahl von Patientenproben vor der Anwendung im Labor geprüft werden.
- Kurzfristige Lagerung der Proben bei $\pm 2-8^{\circ}\text{C}$, eine längerfristige Lagerung wird bei $\pm 20^{\circ}\text{C}$ empfohlen. Wiederholtes Auftauen und Einfrieren der Proben ist zu vermeiden.
- Hinweis:** In **[SPE|DIL]** verdünnte Proben müssen am gleichen Tag im Test eingesetzt werden.

11. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Vor Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.

[WASHBUF]: Das Konzentrat 1:25 mit aqua dest. verdünnen
z.B. 40 ml **[WASHBUF|25x]**+ 960 ml aqua dest. Waschlösung gut mischen!

Probenverdünnung: Alle Untersuchungsproben **1:101** mit **[SPE|DIL]** im Röhrchen verdünnen. z.B. 10 µl Probe + 1 ml **[SPE|DIL]**. Die Verdünnung gut mischen!

Die **[CONTROL]** / Calibratoren sind gebrauchsfertig!

Hinweis: Unter Berücksichtigung der Pipettierzeit wird empfohlen, dass der **Calibrator 1** jeweils nach 4 Streifen (oder nach jeweils 5 Minuten Pipettierzeit) wiederholt eingesetzt wird, um die folgenden Patientenproben mit dem neu berechneten Cut-Off-Wert evaluieren zu können. Bei der **quantitativen** Bestimmung **sollten die Calibratoren 2 bis 4** in der gleichen Weise wie der **Calibrator 1** wiederholt pipettiert werden.

Benötigte Anzahl **[MTS]** den Folienverpackungen entnehmen und in den Halterahmen einsetzen. Nicht benötigte **[MTS]** in den mit Trockenmittel versehenen Plastikbeutel geben, gut verschließen und bei $\pm 2-8^{\circ}\text{C}$ lagern.

12. PIPETTIER- UND INKUBATIONSSCHRITTE

- 100 µl der Negativen Kontrolle, der Calibratoren 1-4 und der verdünnten Patientenproben in die Wells pipettieren. Pipettieren Sie 100 µl **[SPE|DIL]** in Well A1 (Blank).
- 30 Minuten bei Raumtemperatur (21-25°C) inkubieren. Platte dabei keiner direkten Sonneneinstrahlung aussetzen.
- Waschen Sie die Wells 4-mal, wie in k. **WASCHVORGANG** beschrieben.
- 100 µl gebrauchsfertiges Peroxidase-Konjugat in alle Wells pipettieren.
- 30 Minuten bei Raumtemperatur (21-25°C) inkubieren. Platte dabei keiner direkten Sonneneinstrahlung aussetzen.
- Wiederholen Sie den Waschschrift wie in C.
- 100 µl gebrauchsfertiges TMB-Substrat in alle Wells pipettieren.
- Platte sofort dunkel stellen und 10 Minuten bei Raumtemperatur (21-25°C) inkubieren.
 - 100 µl Stopplösung in alle Wells pipettieren. Vorsichtig aufklopfen, um eine gleichmäßige Farbverteilung sicherzustellen, und innerhalb von 10 Minuten messen.
 - Stellen Sie vor dem Messen der Platte sicher, dass der Boden frei von Feuchtigkeit ist und keine Luftblasen in den Wells sind. Messen Sie die in den Wells entstandene Farbreaktion bei 450 nm mit einem geeigneten Platten-Photometer. Bei Photometern, die bei 2 Wellenlängen messen können, setzen Sie den Referenzfilter auf 620/630 nm.

ACHTUNG:

Die Extinktion (OD) des Blank muss immer von den OD's der Proben, der Negativen Kontrolle und der Calibratoren subtrahiert werden.

HINWEISE ZUR TESTDURCHFÜHRUNG

Lassen Sie die Wells zwischen den Inkubationen nicht austrocknen. Halten Sie die Inkubationstemperaturen und Inkubationszeiten ein.

k. WASCHVORGANG

Der Waschvorgang kann manuell mit einer Mehrkanal-Pipette oder auf einem automatischen Platten-Waschgerät durchgeführt werden. Die Wells leeren, umdrehen und auf trockenem, saugfähigem Papier aufklopfen. 4-mal Waschen mit einer Einwirkzeit von ca. 30 Sekunden (300 µl).

13. TROUBLESHOOTING (PROBLEMLÖSUNGEN)

Bei konsequenter Einhaltung der ELISA Arbeitsvorschrift, sorgfältigem Umgang mit Reagenzien und sorgfältiger Pipettierung von Proben und Reagenzien können die folgenden Fehler / Probleme weitgehend vermieden werden.

Problem	Mögliche Ursachen
keine Farbentwicklung nach Zugabe des TMB-Substrates	kein Peroxidase-Konjugat pipettiert, Kontamination des Peroxidase-Konjugates (möglicherweise mit Kontrollseren während des Pipettierens) kann zu einer Inaktivierung führen.
allgemein zu starke Reaktion	falsches Peroxidase-Konjugat (z.B. nicht aus dem Original-Testkit), Inkubationszeit zu lang oder Inkubationstemperatur zu hoch, Wasserqualität für die Waschlösung nicht ausreichend (Grad der Deionisierung zu niedrig)
allgemein zu schwache Reaktion	falsches Peroxidase-Konjugat (z.B. nicht aus dem Original-Testkit), Inkubationszeit zu kurz oder Inkubationstemperatur zu niedrig
Blank zu hoch	ungenau pipettieren des Probenverdünnungspuffers, kontaminierte Reagenzien, Reagenzien verfallen, überschreiten der Inkubationszeit oder -temperatur, Plattenboden (Streifen) äußerlich verunreinigt (vorsichtig reinigen!)
falsch positive / negative Proben	falsche Verdünnung der Proben, bakteriell verunreinigte Proben
unerklärbare Ausreißer	Kontamination der Pipetten, Spitzen oder Behältern mit Metallen (Eisen, Kupfer etc.), unzureichendes Waschen
hohe Variation (Intraassay)	Reagenzien sowie Mikrotiterstreifen nicht auf Raumtemperatur vortemperiert. Waschgerät wäscht nicht korrekt!
hohe Variation (Interassay)	Inkubationsbedingungen nicht konstant (Zeit, Temperatur) hohe Variation der Inkubationstemperaturen, Kontrollen und Proben nicht zur selben Zeit pipettiert (in denselben Intervallen) Pipettier-Reihenfolge prüfen, personenbezogene Variation, Streifen nach dem Waschen ausgetrocknet (unreproduzierbare Ergebnisse)

14. VALIDITÄT DES ASSAYS

Die **CONTROL** / Calibratoren sollten bei jedem Testlauf mitgeführt werden.

Folgende Kriterien zur Testvalidierung müssen erfüllt sein:

- OD-Wert der Negativen Kontrolle muss < 0,100 sein,
- OD-Wert des Calibrators 1 muss >0,200 sein,
- Ratio des Calibrators 4 / Cut-off-Wert muss $\geq 3,5$ sein,
- OD-Wert des Blank muss < 0,100 sein.

Werden die Sollwerte nicht erreicht, sind die Testergebnisse der Proben invalide und der Test muss wiederholt werden.

15. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

A QUALITATIVE BERECHNUNG

Berechnung des "Cut-off-Wertes"

Cut-off-Wert = OD Wert des **CAL1**

GRENZWERTBEREICH = CUT-OFF-WERT \pm 10%

Interpretation der Probenergebnisse:

ERGEBNIS	DEFINITION
negativ -	OD Probe < Cut-off-Wert -10%
grenzwertig	OD Probe \geq Cut-off-Wert -10% OD Probe \leq Cut-off-Wert +10%
positiv +	OD Probe > Cut-off-Wert +10%

Grenzwertige Ergebnisse sollten wiederholt werden. Um unspezifische Reaktionen, die auch zu einem grenzwertigen Ergebnis führen können, auszuschließen, empfehlen wir bei Bestätigung des grenzwertigen Testergebnisses eine **Verlaufskontrolle** anzuschließen.

B BERECHNUNG DER RATIO (Cut-off-Index, COI):

Patientenproben können auch über eine Index-Berechnung beurteilt und quantifiziert werden:

COI = OD-Wert der Probe / Cut-off-Wert,

wobei der Index-Wert von 1,000 dem Cut-off-Wert entspricht.

Interpretation der Probenergebnisse:

Index < 0,9 negatives Ergebnis
Index 0,9 - 1,1 grenzwertiges Ergebnis
Index > 1,1 positives Ergebnis

C BERECHNUNG DER INTERNATIONALEN UNITS (I.U.) QUANTITATIV

Ein Auswertungsdiagramm ist beigefügt. Mit Hilfe des **Cut-off-Wertes** (y-Achse) und der auf dem Etikett des **CAL1** angegebenen Einheit I.U. (x-Achse) erhält man den 1. Punkt der Eichgeraden und trägt ihn in das Auswertungsdiagramm ein. Die weiteren Punkte der **Eichgerade** erhält man aus den gemessenen OD- Werten (y-Achse) der Calibratoren **CAL2**, **CAL3**, **CAL4**, sowie aus den auf den Etiketten der Calibratoren angegebenen Einheiten I.U. (x-Achse).

Aus der linearen Verbindung der einzelnen Punkte entsteht die Eichgerade, aus der die jeweiligen I.U. (x-Achse) der Patientenproben anhand ihrer gemessenen OD- Werte (y-Achse) abgelesen werden können. Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist bis zu den I.U. des **CAL4** gewährleistet.

Hinweis: Proben mit I.U. größer dem **CAL4** sind mit **SPEEDIL** nochmals weiter zu verdünnen.

Der Verdünnungsfaktor ist bei der Bestimmung der I.U. zu berücksichtigen.

Die Angabe der quantitativen Testergebnisse (I.U.) basiert auf " **The International Standard for Anti-Rubella Serum** " der WHO. Nachgewiesene, virus-spezifische IgG- Antikörper sind nicht unbedingt mit einer ausreichenden Immunität gleichzusetzen. Der international anerkannte Grenzwert, oberhalb dessen eine virusspezifische Immunität angenommen werden kann, ist 15 I.U./ml.

Bestimmung und Beurteilung signifikanter Konzentrationsänderungen sollten immer in demselben Testansatz durchgeführt werden. In diesem Fall weist ein Unterschied von mehr als Faktor 2 auf eine solche Änderung hin. Bei der Gegenüberstellung von Ergebnissen aus unterschiedlichen Testansätzen müssen identische Reagenzienchargen verwendet werden. Unter diesen Bedingungen weisen Unterschiede von mehr als Faktor 3 auf signifikante Konzentrationsänderungen hin.

Diagnostische Bedeutung und Interpretation der Ergebnisse siehe **Seite 1**.

Weitere Informationen finden Sie auch auf unserer Website:

<http://www.viro-immun.de/>

Symbole nach IVD/ symbols used with IVD devices/ Symbole / Símbolos/ Simboli/ Simbolos/ Symboly/ Címkékén/ Συμβολα IVD

MTS

Mikrotiterstreifen/ microtiterstrips/ Microplaques sensibilisées/ placa de microtítulo/ piasta microtitolo/ Tiras de microtitulacão/ Mikrotitračni stripy/ Mikrotitercsikok/ Ταινίες μικροπιλοποίησης

SPEEDIL

Probenverdünnungspuffer/ dilution buffer/ Tampon de dilution/ reactivo compensador/ soluzione tampone/ estabilizador de diluição/ Redici roztok vzork/ Mintahígító/ Αραιωτικό Δείγματος

WASHBUF25x

Waschlösung/ wash solution/ solution de lavage/ solución limpiadora/ soluzione lavaggio/ solução de lavagem Konzentrat/ concentrate / Concentré / concentrado/ concentrato/ concentrado 25x/ Promývaci roztok 25x/ Mosópuferkoncentrátum 25x/ Διάλυμα Πλύσης 25x

CONJ|POD|IgG

Peroxidase-Konjugat / Peroxidase conjugate / Conjugue Peroxidase/Conjugado Peroxidasa / coniugato con perossidasí/ conjugado Peroxidase/ Peroxidázony konjugát / Peroxidáz Konjugátum/ Συζευγμένη υπεροξειδάση **IgG**

CAL1

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrador/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 1

CAL2

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrador/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 2

CAL3

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrador/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 3

CAL4

Calibrator/ calibrator/ calibrateur/ calibrador/ calibratori/ calibrador/ Kalibrátor/ Kalibrátorok/ Διάλυμα Βαθμονόμησης 4

CONTROL-

Negative Kontrolle/ negative control/ Contrôle négatif/ control negativo/ controllo negativo/ controle negativo / Negativní kontrola/ Negatív Kontroll/ αρνητικός Μάρτυρας

SUBS|TMB

TMB-Substrat/ TMB substrate/ substrat TMB/ substrato TMB / TMB substrát / TMB Szubsztrát/ Υπόστρωμα TMB

SOLN|STOP

Stopplösung/ stop solution/ Solution d'arrêt/ solución de parada/ soluzione de arresto/ solução de parada/ Stop pufr / Stop Oldat/ Διάλυμα Τερματισμού

Bib

Literatur/ Literature/ Littérature/ Bibliografia/ Bibliografía/ Literatura/ Irodalom/ Βιβλιογραφία

LOT

Charge/ lot/ Lot/ lote/ carcia/ lote/ Číslo šarže/ Lot Szám/ Αριθμός παρτίδας

IVD

In-vitro-Diagnostikum/ in vitro diagnostic/ Diagnostic in vitro/ diagnóstico in-vitro/ In-vitro diagnostic/ diagnóstico In-vitro/ In vitro diagnostikum /In Vitro Diagnosztikum/ Διαγνωστική ιατρική συσκευή In vitro

REF

Artikel Nr./ reference or order number/ Référence ou numéro de commande/ referencia o número de pedido/ codice di riferimento o di commissione/ referência ou número de encomenda/ Katalogové číslo/ Katalógusban Szereplő Kód/ Κωδικός Καταλόγου

96

96 Bestimmungen/ tests/ testés/ determinazioni/ testes / Počet Testů/ Vizsgálatok Száma/ Αριθμός εξετάσεων

i

Gebrauchsanweisung beachten/ consult instructions for use/ consulter le mode d'emploi/consultar las instrucciones de uso/ consultare le istruzioni per l'uso/ consultar instruções de uso/ Přečtěte si Návod k použití/ Olvassa el a Használati Utasítást/ Δείτε Οδηγίες Χρήσεως

fl

Temperaturgrenzen/ temperature limitation/ Limites de température/ Limites de temperatura/ Limiti di temperatura/ Limites de temperatura/ Teplotní limity/ Hőmérsékleti Korlátozások/ Θερμοκρασιακά όρια

h

Verfallsdatum:/ expiry date/ date d'expiration/ Fecha de caducidad/ Data di decadenza/ Limite de validade/ Datum expirace/ Lejárati Idő/ Ημερομηνία λήξης (Χρήση έως ...)

h

Hergestellt von/ manufactured from/ fabriqué par/ elaborado por/ fabbricato da/ produzido por/ Výrobce/ Gyártó/ Κατασκευάζεται από...

CE

CE 0123

VIRO-IMMUN Labor-Diagnostika GmbH, In der Au 29, D-61440 Oberursel, Germany -Tel.: +49-6171-6281-00 - Fax: +49-6171-6281-12 email: info@viro-immun.de

ELISA-Test
Quantitatives Auswertungsdiagramm * quantitative diagram

