

Instructions for Use

Schistosoma IgG ELISA

IVD



REF EIA-3512

 96



DRG 

DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße. 18, D-35039 Marburg
Phone: +49 (0)6421-1700 0, Fax: +49 (0)6421-1700 50
Website: www.drg-diagnostics.de
E-mail: drg@drg-diagnostics.de

Distributed by:

DRG 

DRG International, Inc., USA
841 Mountain Ave., Springfield, NJ 07081
Phone: (973) 564-7555, Fax: (973) 564-7556
Website: www.drg-international.com
E-mail: corp@drg-international.com

**Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit.
Verwenden Sie nur die jeweils gültige, im Testkit enthaltene, Gebrauchsanweisung.
Si prega di usare la versione valida delle istruzioni per l'uso a disposizione con il kit.
Por favor, se usa solo la version valida de la metodico técnico incluido aqui en el kit.**

Table of Contents Tabella die Contenuti

1	INTENDED USE.....	2
2	PRINCIPLE OF PROCEDURE.....	2
3	REAGENTS	2
4	STATEMENT OF WARNINGS.....	2
5	STORAGE.....	2
6	PREPARATION.....	3
7	SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING.....	3
8	ASSAY PROCEDURE	3
9	READING OF RESULTS	4
10	QUALITY CONTROL	4
11	TROUBLESHOOTING	4
12	INTERPRETATION OF RESULTS.....	4
13	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.....	4
14	PERFORMANCE CHARACTERISITICS.....	4
1	USO INTESO	5
2	PRINCIPIO DEL TEST	5
3	REAGENTI.....	5
4	PRECAUZIONI.....	5
5	CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE.....	5
6	PREPARAZIONE	6
7	RACCOLTA DEI CAMPIONI	6
8	PROCEDURA DEL TEST	6
9	LA LETTURA DI RISULTATI.....	7
10	CONTROLLO DI QUALITÀ	7
11	RISOLUZIONE DEI PROBLEMI.....	7
12	INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	7
13	LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE	7
14	CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO	7
15	REFERENCES / LITERATURE.....	8
	SYMBOLS USED.....	9

1 INTENDED USE

For the qualitative determination of serum or plasma antibodies in humans, primarily IgG, to *Schistosoma spp.* using the ELISA technique.

2 PRINCIPLE OF PROCEDURE

During the first incubation, the antibodies in the patients' serum bind to the antigens in the test well. The next incubation allows the enzyme complex to bind to the antigen-antibody complex. After a few washings to remove unbound enzymes, a substrate is added that develops a blue color in the presence of the enzyme complex and peroxide. The stop solution ends the reaction, turning the blue assay color to yellow.

3 REAGENTS

Item	Description	Symbol
Microtiterwells	Microwells containing <i>Schistosoma</i> SEA antigens - 96 test wells in a test strip holder	MT PLATE
Enzyme Conjugate	One (1) bottle containing 11 mL of Protein-A Peroxidase (HRP) in a stabilizing buffer with Thimerosal	CONJ
Positive Control	One (1) vial containing 1 mL of diluted rabbit <i>Schistosoma</i> - positive sera in buffer with Thimerosal	CONTROL +
Negative Control	One (1) vial containing 1 mL of diluted <i>Schistosoma</i> - negative human sera in buffer with Thimerosal	CONTROL -
Chromogen TMB	One (1) bottle containing 11 mL of the chromogen tetramethylbenzidine (TMB)	SUBS TMB
Wash Concentrate (20X)	One (1) bottle containing 25 mL of concentrated buffer and surfactant with Thimerosal	WASH BUF
Dilution Buffer	Two (2) bottles containing 30 mL of buffered protein solution with Thimerosal	SPECM DIL
Stop Solution	One (1) bottle containing 11 mL of 1M phosphoric acid	SOLN

4 STATEMENT OF WARNINGS

- Do not use solutions if they precipitate or become cloudy.
- Wash concentrate may show crystallization upon storage at 4 °C. Crystallization will disappear after diluting to working strength.
- Do not use serum that may have supported microbial growth, or is cloudy due to high lipid content. Samples high in lipids should be clarified before use.
- Do not add azides to the samples or any of the reagents.
- Controls and some reagents contain Thimerosal as a preservative.
- Treat all sera as if capable of being infectious.
- The negative control has been tested and found negative for Hepatitis B surface antigen and for the antibody to HIV by required test methods. Since no test can offer complete assurance that infectious agents are not present, this product should be used under appropriate safety conditions that would be used for any potentially infectious agent.

5 STORAGE

- Reagents, strips and bottled components should be stored at 2 °C - 8 °C.
- Squeeze bottle containing diluted wash buffer may be stored at room temperature (15 °C - 25 °C).

6 PREPARATION

Wash Buffer:

Remove cap and add contents of bottle to 475 mL DI water. Place diluted wash buffer into a squeeze bottle.

Note: Washings consist of filling to the top of each well, shaking out the contents and refilling.

Avoid generating bubbles in the wells during the washing steps.

7 SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Serum or plasma (collected with heparin, EDTA, or citrate) should be stored at 2 °C - 8 °C if it is to be analyzed within 5 days. Samples may be held for extended storage at -20 °C or lower for 1 year.

Do not heat inactivate samples. Avoid repeated freezing and thawing of samples.

Test samples:

Make a **1:40 dilution** of patient sample using the dilution buffer.

(e.g. 10 µL serum + 390 µL of dilution buffer)

8 ASSAY PROCEDURE

8.1 Materials Provided

- *Schistosoma* IgG ELISA Kit

8.2 Materials Required But Not Provided

- Micropipettes
- Squeeze bottle for washing strips
- DI water
- ELISA plate reader with a 450/620-650 nm filter (optionally, results can be read visually)
- Tubes for serum dilutions
- Timer

8.3 Test Procedure

1. Break off number of wells needed (two for controls plus number of samples) and place in strip holder.
2. Add **100 µL** of the negative control to well #1,
100 µL of the positive control to well #2,
and **100 µL** of the diluted (1:40) test samples to the remaining wells.
Note: Negative and positive controls are supplied pre-diluted. Do not dilute.
3. Incubate at room temperature (15 °C - 25 °C) for **10 minutes**.
4. Shake out contents and wash 3 times with diluted wash buffer*.
5. Add **2 drops (100 µL)** of Enzyme Conjugate to each well.
6. Incubate at room temperature for **10 minutes**.
7. Shake out contents and wash 3 times with diluted wash buffer.*
8. Add **2 drops (100 µL)** of Chromogen to each well.
9. Incubate at room temperature for **5 minutes**.
10. Add **2 drops (100 µL)** of Stop Solution.
11. Zero ELISA reader on air, read wells at 450 nm with a reference filter at 620-650 nm or read results visually.

* Washings consist of vigorously filling each well to overflowing and decanting contents three (3) separate times.
If using automated washers: add 1 minute dwell time between washings and increase number of washes from three to five.

Avoid generating bubbles in the wells during the washing steps.

Controls must be included each time the kit is run.

9 READING OF RESULTS

Visually: Look at each well against a white background (e.g. paper towel) and record as clear or +, ++ or +++ reaction.

ELISA Reader: Zero reader on air.
Set for bichromatic readings at 450/620-650 nm

10 QUALITY CONTROL

The use of a positive and negative control allows easy validation of kit stability. For a valid test, the positive control must be over 0.5 OD units and the negative control must be under 0.2 OD units. Should the values fall outside these ranges, the kit should not be used.

11 TROUBLESHOOTING

Problem: Negative control has substantial color development.

Correction: Inadequate washings. Rerun test with more vigorous washings.

12 INTERPRETATION OF RESULTS**Spectrophotometer:**

Zero ELISA Reader on air. Read all wells using a bichromatic reading with filters at 450 nm and 620-650 nm.

Positive - Absorbance reading greater or equal to 0.2 OD units

Negative - Absorbance reading less than 0.2 OD units

Visual:

Compare results to control. A sample should be interpreted as positive if the degree of color development is obvious and significant.

13 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Serological results should be used as an aid in diagnosis and should not be interpreted as diagnostic by themselves.

14 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

		Reference Method*	
		+	-
EIA-3512	+	12	6
	-	0	34

Positive Agreement: 100% (12/12)

Negative Agreement: 85% (34/40)

*Reference Method refers to a commercially available ELISA.

1 USO INTESO

Per la determinazione qualitativa di anticorpi IgG contro *Schistosoma spp* nel siero o plasma usando una tecnica immuno-enzimatico (ELISA).

2 PRINCIPIO DEL TEST

Per dettagli più precisi consultare la istruzioni per l'uso in inglese.

3 REAGENTI

Item	Description	Symbol
Micropiastra	Una micropiastra (96 pozzetti staccabili) rivestita con dell'antigene Schistosoma SEA	MT PLATE
Coniugato Enzimatico	1 bottiglia, 11 mL proteina A coniugate con perossidasi con Thimerosal	CONJ
Controllo Positivo	1 flacone, 1 mL, il siero di coniglio diluito positivo con Thimerosal	CONTROL +
Controllo Negativo	1 flacone, 1 mL, siero diluito, negativo umano c on Thimerosal	CONTROL -
Cromogeno TMB	1 bottiglia, 11 mL cromogeno di tetrametilbenzidina (TMB)	SUBS TMB
Concentrato di Lavaggio (20X)	1 bottiglia, 25 mL, Il tampone concentrati ed il surfactant con Thimerosal	WASH BUF
Tampone di Diluizione	2 bottiglie, 30 mL, Soluzione di proteina di buffered con Thimerosal	SPECM DIL
Soluzione di Arresto	1 bottiglia, 11 mL, 1 M acido fosforico	SOLN

4 PRECAUZIONI

- Non usare soluzioni precipitate o che appaiono torbide.
- Il concentrato di lavaggio potrebbe esibire cristallizzazione se conservato a 4 °C. La cristallizzazione scompare dopo la diluizione alla concentrazione di lavoro.
- Non usare siero suscettibile di avere flora microbica o con un aspetto torbido a causa dell'alto contenuto di lipidi. I campioni con contenuto elevato di lipidi vanno chiarificati prima dell'uso.
- Non aggiungere azidi ai campioni o ad alcuno dei reagenti.
- I controlli ed alcuni reagenti contengono Thimerosal come conservante.
- Trattare tutti i sieri come se fossero infetti.
- Gli standard sono stati analizzati con le metodiche di analisi previste e sono risultati negativi per l'antigene di superficie dell'epatite B e gli anticorpi dell'HIV. Il presente prodotto va usato nelle condizioni di sicurezza considerate idonee per qualsiasi agente potenzialmente infetto.

5 CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE

- Reagenti, strisce reattive e componenti contenuti in flaconi: conservare alla temperatura di 2 °C - 8 °C.
- La bottiglia comprimibile contenente tampone di lavaggio diluito può essere conservata a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C).

6 PREPARAZIONE

Tampone di lavaggio

Togliere il tappo e aggiungere il contenuto del flacone a 475 mL di acqua di grado reagente. Versare il tampone di lavaggio diluito in una bottiglia comprimibile con punta stretta.

Nota: i lavaggi consistono nel riempire fino in alto i pozzetti, gettare via il contenuto e riempire di nuovo.

Durante le fasi di lavaggio evitare di creare bolle nei pozzetti.

7 RACCOLTA DEI CAMPIONI

I campioni (siero o EDTA-, eparina- or citrate plasma) dovrebbero essere magazzinetti ben chiusi fino a 5 giorni a 2 °C - 8 °C.

Campioni magazzinetti per un periodo più lungo (1 anno) dovrebbero essere congelati a ≤ 20 °C.

Non inattivare sieri con calore ed evitare ripetuti cicli di congelamento e scongelamento.

Analisi dei campioni:

Eseguire una diluizione dei campioni dei pazienti in un rapporto di **1:40**, utilizzando il tampone di diluizione.

(p. es.: 10 µL siero + 390 µL tampone di diluizione)

8 PROCEDURA DEL TEST

8.1 Materials Provided

- Schistosoma IgG ELISA Kit

8.2 Materiali richiesti ma non in dotazione

- Pipette
- Bottiglia comprimibile con punta stretta
- Acqua distillata o deionizzata in vetro
- Lettore per strisce di micropozzetti in grado di leggere a lunghezze d'onda di 450 & 620-650 nm
- Provette per le diluizioni
- Timer

8.3 Procedura

1. Separare il numero di pozzetti necessario (due per i controlli oltre al numero di campioni) e posarli nell'apposito supporto.
2. Dispensare **100 µL** di controllo negativo nel pozzetto n. 1,
100 µL di controllo positivo nel pozzetto n. 2
e **100 µL** dei campioni di analisi diluiti (1:40) nei pozzetti rimanenti.
Il controllo negativo e positivo sono forniti prediluiti. NON diluirli ulteriormente.
3. Incubare a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) per **10 minuti**.
4. Eliminare il contenuto e lavare per 3 volte con tampone di lavaggio diluito.*
5. Aggiungere **2 gocce (100 µL)** di coniugato enzimatico in ciascun pozzetto.
6. Incubare a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) per **10 minuti**.
7. Eliminare il contenuto e lavare per 3 volte con tampone di lavaggio diluito.*
8. Aggiungere **2 gocce (100 µL)** di cromogeno in ciascun pozzetto.
9. Incubare a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) per **5 minuti**.
10. Aggiungere **2 gocce (100 µL)** di soluzione di arresto in ciascun pozzetto.
11. Azzerare lo strumento contro aria, leggere i risultati bicromaticamente a 450/620-650 nm o leggere i risultati visivamente.

* Nota: i lavaggi consistono nel riempire fino in alto i pozzetti, gettare via il contenuto e riempire di nuovo.

Se si utilizzana un lavatore automatico: aggiungere 1 minuto di tempo di pausa tra i lavaggi e aumentare il numero di lavaggi da tre a cinque.

Durante le fasi di lavaggio evitare di creare bolle nei pozzetti.

9 LA LETTURA DI RISULTATI

- Visivamente:** Osservare ciascun pozzetto contro uno sfondo bianco e registrare un risultato trasparente o una reazione +, ++ o +++.
- Lettores ELISA:** Azzerare il lettore ELISA rispetto all'aria o vuoto, usando il tampone di diluizione del campione, leggere i pozzetti a 450/650-620 nm

10 CONTROLLO DI QUALITÀ

L'uso dei controlli consente la convalida della stabilità del kit. I valori previsti per i controlli sono:

Positivo: maggiore di 0.5 unità OD

Negativo: minore di 0.2 unità OD.

Il kit non va usato se uno o più controlli non rientrano nei limiti.

11 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

Problema: Il controllo negativo presenta una colorazione eccessiva dopo lo sviluppo.

Correzione: Lavaggi insufficienti. Ripetere il test con lavaggi più accurati.

12 INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Lettores ELISA

Azzerare il lettore ELISA rispetto all'aria, leggere i pozzetti a 450/620-650 nm

Positivo – Valore di assorbanza maggiore di o uguaglia a 0.2 unità OD

Negativo – Valore di assorbanza minore di 0.2 unità OD

Visivamente

Confrontare i risultati dei pazienti ai controlli. Un campione va interpretato come positivo se il grado di sviluppo cromatico è ovvio e significativo.

13 LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE

I risultati sierologici costituiscono un ausilio alla diagnosi, ma non possono essere usati come unico metodo di diagnosi.

14 CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO

Metodo di riferimento *

		+	-
EIA-3512	+	12	6
	-	0	34

Specificità: 100% (12/12)


Sensibilità: 85% (34/40)

* Metodo di riferimento fa riferimento a un ELISA commercialmente disponibile.

15 REFERENCES / LITERATURE

1. Kinkel, H., Dittrich, S., Baumer, B., & Weitzel, T. (2012). Evaluation of Eight Serological Tests for Diagnosis of Imported Schistosomiasis. *Clinical and Vaccine Immunology*, 19(6), 948-953. doi:10.1128/cvi.05680-11
2. Ambroise-Thomas P, Loizzo T, Desgeorges PT. 1981. Human schistosomiasis due to *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium* and *S. japonicum*. Serological diagnosis by ELISA, immunofluorescence and indirect hemagglutination. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* 61: 379-392.
3. Corachan M. 2002. Schistosomiasis and international travel. *Clin. Infect. Dis.* 35: 446-450.
4. Hamilton JV, Klinkert M, Doenhoff MJ. 1998. Diagnosis of schistosomiasis: antibody detection, with notes on parasitological and antigen detection methods. *Parasitology* 117 (Suppl): S41-S57.
5. Whitty CJ, et al. 2000. Utility of history, examination and laboratory tests in screening those returning from Europe from the tropics for parasitic infection. *Trop. Med. Int. Health* 5: 818-823.
6. World Health Organization. 2010. Schistosomiasis. Fact sheet no. 115. World Health Organization, Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs115/en>.

SYMBOLS USED

Symbol	English	Deutsch	Italiano	Español	Français
	European Conformity	CE-Konformitäts-kennzeichnung	Conformità europea	Conformidad europea	Conformité normes européennes
	Consult instructions for use *	Gebrauchsanweisung beachten *	Consultare le istruzioni per l'uso	Consulte las instrucciones de uso	Consulter les instructions d'utilisation
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device *	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum *	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Producto sanitario para diagnóstico In vitro	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Catalogue number *	Artikelnummer *	Numero di Catalogo	Número de catálogo	Référence de catalogue
	Batch code *	Chargencode *	Codice del lotto	Codigo de lote	Numéro de lot
	Contains sufficient for <n> tests *	Ausreichend für <n> Prüfungen	Contenuto sufficiente per "n" saggi	Contenido suficiente para <n> ensayos	Contenu suffisant pour "n" tests
	Temperature limit *	Temperaturbegrenzung *	Temperatura di conservazione	Temperatura de conservacion	Température de conservation
	Use-by date *	Verwendbar bis *	Utilizzare prima del	Establa hasta	Utiliser jusque
	Manufacturer *	Hersteller *	Fabbricante	Fabricante	Fabricant
	Caution *	Achtung *			
	For research use only	Nur für Forschungszwecke	Solo a scopo di ricerca	Sólo para uso en investigación	Seulement dans le cadre de recherches
<i>Distributed by</i>	Distributed by	Vertreiber	Distributore	Distribuidor	Distributeur
<i>Content</i>	Content	Inhalt	Contenuto	Contenido	Contenu
<i>Volume/No.</i>	Volume / No.	Volumen/Anzahl	Volume/Quantità	Volumen/Número	Volume/Quantité