



Instructions for Use

Taenia solium IgG ELISA

IVD



REF EIA-3513

 96



DRG 

DRG Instruments GmbH, Germany
Frauenbergstraße. 18, 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.
Utilisez seulement la version valide des Instructions d'utilisation fournies avec le kit.**

Table of Contents / Inhaltsverzeichnis / Tabella die Contenuti / Tabla de Contenidos

1	INTENDED USE.....	3
2	PRINCIPLE OF PROCEDURE.....	3
3	REAGENTS	3
4	STATEMENT OF WARNINGS	4
5	STORAGE.....	4
6	PREPARATION.....	4
7	SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING.....	4
8	ASSAY PROCEDURE	4
9	READING OF RESULTS	5
10	QUALITY CONTROL	5
11	TROUBLESHOOTING	5
12	INTERPRETATION OF RESULTS.....	6
13	LIMITATIONS OF THE PROCEDURE.....	6
14	EXPECTED VALUES.....	6
15	PERFORMANCE CHARACTERISTICS.....	6
16	REFERENCES / LITERATURE.....	6
1	VERWENDUNGSZWECK.....	7
2	TESTPRINZIP	7
3	REAGENZIEN	7
4	VORSICHTSMAßNAHMEN	7
5	LAGERBEDINGUNGEN	7
6	VORBEREITUNG DER REAGENZIEN	8
7	PROBENGEWINNUNG	8
8	TESTVERFAHREN	8
9	ABLESEN DER ERGEBNISSE	9
10	QUALITÄTSKONTROLLE.....	9
11	FEHLERBEHEBUNG.....	10
12	INTERPRETATION DER ERGEBNISSE	10
13	GRENZEN DES TESTVERFAHRENS.....	10
14	ERWARTETE ERGEBNISSE.....	10
15	LEISTUNGSKENNZEICHEN	10

1	USO INTESO	11
2	PRINCIPIO DEL TEST	11
3	REAGENTI	11
4	PRECAUZIONI	11
5	CONDIZIONI DI CONSERVAZIONE	11
6	PREPARAZIONE	11
7	RACCOLTA DEI CAMPIONI	12
8	PROCEDURA DEL TEST	12
9	LA LETTURA DI RISULTATI	13
10	CONTROLLO DI QUALITÀ	13
11	RISOLUZIONE DEI PROBLEMI	13
12	INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI	13
13	LIMITAZIONI DELLE PROCEDURE	13
14	VALORI ATTESI	13
15	CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO	14

1	INTRODUCCIÓN	15
2	FUNDAMENTO DEL ENSAYO	15
3	REACTIVOS	15
4	PRECAUCIONES	15
5	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO	15
6	PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS	15
7	TOMA DE MUESTRAS	16
8	PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA	16
9	LA LECTURA DE RESULTADOS	17
10	CONTROL DE CALIDAD	17
11	RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS	17
12	INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS	17
13	LIMITACIONES	17
14	RESULTADOS ESPERADOS	18
15	CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO	18

	SYMBOLS USED	19
--	--------------------	----

1 INTENDED USE

For the qualitative screening of serum or plasma IgG antibodies to *Taenia solium* using an Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay (ELISA) technique.

1.1 Summary

Infection of the larval form (cysticerci) of *Taenia* in any tissue or organ is known as the disease cysticercosis. Many sites of infection have been documented but the central nervous system has been the most common. Presence of the cysticerci in the brain may cause increased cranial pressure, seizures and altered mental states. Any person with impaired CNS function should have the possibility of *T. solium* infection investigated.

The disease is acquired by ingestion of *T. solium* eggs from a number of different routes; including food contaminated with feces, unclean hands of *T. solium* infected workers, contaminated water or gastric reflux in tapeworm carriers.

Cysticercosis is rare in most industrialized nations but is endemic in developing areas such as Latin America, Asia and Africa. Most of the cases of cysticercosis in the United States are associated with immigrants from these countries.

Reliable diagnosis of cysticercosis requires multiple testing methods such as radiography and serology. Although use of cyst vesicular antigen has helped to increase its sensitivity and specificity, significant cross reactions with Echinococcosis occurs. If Echinococcus infection cannot be ruled out in the differential diagnosis, a positive sample should be confirmed by other means (i.e. immunoblot offered by the CDC) or by other non-serological means.

2 PRINCIPLE OF PROCEDURE

The micro test wells are coated with *T. solium* cyst fluid antigen. During the first incubation with the diluted patient sample, any antibodies which are reactive with the antigen will bind to the coated wells. After washing to remove the rest of the sample, the Enzyme Conjugate is added. If antibodies have been bound to the wells, the Enzyme Conjugate will then bind to these antibodies. After another series of washes, a chromogen (tetramethylbenzidine or TMB) is added. If the Enzyme Conjugate is present, the peroxidase will catalyze a reaction that consumes the peroxide and turns the chromogen from clear to blue. Addition of the Stop Solution ends the reaction and turns the blue color to a bright yellow color. The reaction may then be read visually or with an ELISA reader.

3 REAGENTS

Item	Description	Symbol
Microtiterwells	Microwells containing <i>T. solium</i> antigens - 96 test wells in a test strip holder.	MT PLATE
Enzyme Conjugate	One (1) bottle containing 11 mL of Protein-A conjugated to peroxidase.	CONJ
Positive Control	One (1) vial containing 1 mL of diluted positive rabbit serum.	CONTROL +
Negative Control	One (1) vial containing 1 mL of diluted negative human serum.	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.	WASH BUF
Dilution Buffer	Two (2) bottles containing 30 mL of buffered protein solution.	SPECM DIL
Stop Solution	One (1) bottle containing 11 mL of 1 M 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 2 °C - 8 °C. Crystallization will disappear after dilution 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.

Treat all sera as if capable of being infectious. Negative control has been tested and found negative for Hepatitis B surface antigen and for the antibody to HIV by required test methods. This product should be used under appropriate safety conditions that would be used for any potentially infectious agent.

Do not add azides to the samples or any of the reagents.

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.

6 PREPARATION

Wash Buffer - Remove cap and add contents of bottle to 475 mL of reagent grade water. Place diluted wash buffer into a squeeze bottle with a narrow tip opening.

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 and avoid repeated freezing and thawing of samples.

Test samples:

Make a **1:64 dilution** of patient sample using the dilution buffer (e.g. 5 µL sample and 315 µL dilution buffer).

8 ASSAY PROCEDURE

8.1 Materials Provided

Taenia solium IgG ELISA Kit

8.2 Materials Required But Not Provided

- Micropipettes
- Squeeze bottle for washing strips (narrow tip is recommended)
- Reagent grade water and graduated cylinder
- Tubes for sample dilution
- Absorbent paper
- Timer

8.3 Suggested Materials

ELISA plate reader with a 450 nm and a 620 to 650 nm filter (optional if results are read visually)

8.4 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** (or 2 drops) of the negative control to well #1, **100 µL** of the positive control to well #2 and **100 µL** of the diluted (1:64) test samples to the remaining wells.

Note: Negative and positive controls are supplied prediluted. Do NOT dilute further.

3. Incubate at room temperature (15 °C to 25 °C) for 10 minutes.
4. Shake out contents and wash 3 times with the diluted wash buffer.*
After last wash step, slap the wells on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
5. Add 2 drops (100 µL) of Enzyme Conjugate to each well.
6. Incubate at room temperature for 5 minutes.
7. Shake out contents and wash 3 times with wash buffer.*
After last wash step, slap the wells on a clean absorbent towel to remove excess wash buffer.
8. Add 2 drops (100 µL) of the Chromogen to every well.
9. Incubate at room temperature for 5 minutes.
10. Add 2 drops (100 µL) of the Stop Solution and mix by tapping strip holder.

* If using automated washers: add 1 minute dwell time between washings and increase number of washes from three to five.

When possible, avoid formation of bubbles in the wells as this may affect the end results.

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 450/650-620 nm.

10 QUALITY CONTROL

The use of controls allows validation of kit stability. The kit should not be used if any of the controls are out of range.

Expected values for the controls are:

Negative - 0.0 to 0.2 OD units

Positive - 0.5 OD units and above

11 TROUBLESHOOTING

Negative control has excessive color after development.

Reason: inadequate washings.

Correction: wash more vigorously. Remove excessive liquid from the wells by tapping against an absorbent towel. Do not allow test wells to dry out.

12 INTERPRETATION OF RESULTS

12.1 Interpretation of Results - ELISA Reader

Zero ELISA Reader on air. Read all wells at 450/650 to 620 nm.

Positive - Absorbance reading equal to or greater than 0.3 OD units.

Negative - Absorbance reading less than 0.3 OD units.

A positive OD reading indicates that the patient may be infected by *T. solium* or a closely related organism (e.g. *Echinococcus*).

A negative OD reading indicates that the patient has no detectable level of antibodies. This may be due to lack of infection or poor immune response by the patient.

12.2 Interpretation of Results -Visual

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

13 LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Serologic results are an aid in diagnosis but cannot be used as the sole method of diagnosis. Significant cross reactions with *Echinococcus* infections will occur in this assay. If *Echinococcus* infection cannot be ruled out in the differential diagnosis, a positive sample should be confirmed by other means (i.e. immunoblot offered by the CDC) or by other non-serological means.

14 EXPECTED VALUES

The number of individuals showing positive results can vary significantly between populations and geographic regions. If possible, each laboratory should establish an expected range for its patient population.

15 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

		Reference Method	
		+	-
EIA-3513	+	72	2
	-	10	46

15.1 Sensitivity

Thirty samples positive by immunoblot for cysticercosis infection were tested in the DRG ELISA kit (EIA-3513); 26/30 samples were positive in the ELISA kit (EIA-3513) giving a sensitivity of 87% versus the immunoblot.

Fifty-two samples positive by another ELISA for cysticercosis infection were tested in the DRG ELISA kit (EIA-3513); 46/52 samples were positive in the ELISA kit (EIA-3513) giving a sensitivity of 88% versus other ELISA.

15.2 Specificity

Forty-eight normal samples were tested in the ELISA kit (EIA-3513) kit; 46/48 samples were negative in the ELISA kit (EIA-3513) giving a specificity of 96%.

16 REFERENCES / LITERATURE

1. Flisser, A. and Larralde, C., Cysticercosis. Immunodiagnosis of Parasitic Diseases, Vol. 1, *Helminthic Diseases*. Ed. Walls and Schantz. Academic Press, 1986. pp. 109-149
2. Evans, C. et. Al., Controversies in the Management of Cysticercosis, *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 3, No. 3, July-September 1997, pp.403-405
3. Larralde, C. et. al., Reliable serology of *Taenia solium* cysticercosis with antigens from cyst vesicular fluid: ELISA and hemagglutination tests. *Am J Trop Med Hyg*. Vol.35#5, 1986. pp. 965-973.
4. Rhoads, M. and Murrell, D., Taeniasis and Cysticercosis, *Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases, Principles and Practice*, Vol.1, 1988, pp.987-992
5. Del Brutto, O. and Sotelo, J., Neurocysticercosis: An Update, *Reviews of Infectious Diseases*, Vol. 10, No. 6, November-December 1988, pp. 1075-1087

1 VERWENDUNGSZWECK

Nur zur Verwendung bei der In-vitro-Diagnostik.

2 TESTPRINZIP

Angaben hierzu entnehmen Sie bitte der ausführlichen englischen Version der Gebrauchsanweisung

3 REAGENZIEN

Item	Description	Symbol
Mikrotiterplatte	Eine Mikrotiterplatte (12 x 8 Vertiefungen, brechbar) beschichtet mit T. solium Antigen	MT PLATE
Enzym-Konjugat	1 Fläschchen 11 mL Eiweiß A konjugiert mit Peroxidase.	CONJ
Positive Kontrolle	1 Fläschchen 1 mL Verdünnten positives Serum.	CONTROL +
Negative Kontrolle	1 Fläschchen 1 mL verdünntes negatives Serum.	CONTROL -
Chromogen TMB	1 Fläschchen 11 mL Chromogen mit Tetramethylbenzidin (TMB).	SUBS TMB
Waschkonzentrat (20X)	1 Fläschchen 25 mL Pufferkonzentrat und Surfactant.	WASH BUF
Verdünnungspuffer	2 Fläschchen 30 mL, gepufferte Proteinlösung.	SPECM DIL
Stopplösung	1 Fläschchen 11 mL, enthält 1 M Phosphorsäure	SOLN

4 VORSICHTSMAßNAHMEN

Verwenden Sie die Lösungen nicht, wenn sich ein Niederschlag oder eine Trübung gebildet hat.

Wenn das Waschkonzentrat bei 2 °C - 8 °C gelagert wird, können sich Kristalle darin bilden. Beim Verdünnen auf die Arbeitskonzentration lösen sich die Kristalle auf.

Serum, das möglicherweise bakteriell kontaminiert ist oder das aufgrund eines hohen Lipidgehalts trüb erscheint, darf nicht verwendet werden. Aus Proben mit hohem Lipidgehalt muss vor der Verwendung das Lipid entfernt werden.

Behandeln Sie alle Seren als infektiöses Material. Die Standards wurden getestet und mit den erforderlichen Testmethoden als negativ für Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Antikörper gegen HIV befunden. Bei Verwendung dieses Produkts müssen die im Fall von infektiösem Material erforderlichen Sicherheitsvorkehrungen eingehalten werden.

Fügen Sie den Proben oder den Reagenzien kein Azid zu.

Verwenden Sie frische Pipettenspitzen für jede Probe und jedes Reagenz, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden

Reagenzien sollen geprüft werden auf Anzeichen von Bakterien- oder Pilzbefall

Benutzte Kavitäten (Wells) nicht wiederverwenden.

Alle Komponenten in diesem Kit sind standardisiert als eine Einheit. Komponenten aus unterschiedlichen Kitchargen nicht miteinander vermischen. Keine Reagenzien anderer Hersteller verwenden.

5 LAGERBEDINGUNGEN

Reagenzien, Teststreifen und Komponenten in Flaschen zwischen 2 °C - 8 °C lagern.

Die Spritzflasche mit dem verdünnten Waschpuffer kann bei Raumtemperatur gelagert werden.

6 VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Waschpuffer:

Entfernen Sie den Deckel und geben Sie den Inhalt der Flasche in 475 mL deionisiertes Wasser. Füllen Sie den verdünnten Waschpuffer in eine Spritzflasche mit enger Spitze.

Hinweis: Bei den einzelnen Waschschrritten werden die Wells bis zum oberen Rand gefüllt, geleert und noch einmal gefüllt.

Achten Sie darauf, dass sich beim Waschen keine Luftblasen in den Wells bilden.

7 PROBENGWINNUNG

Serum oder Plasma (Heparin-, EDTA- oder Zitratplasma) kann bis zur Analyse für 5 Tage bei 2 °C - 8 °C gelagert werden.

Für eine längere Lagerung (bis zu einem Jahr) müssen die Proben bei ≤ -20 °C eingefroren werden.

Die Proben dürfen nicht hitzeinaktiviert werden. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und wieder Einfrieren der Proben.

Vorbereitung der Proben

Stellen Sie mit dem Verdünnungspuffer eine **1:64**-Verdünnung der Patientenproben her:

z.B. 5 μ L Probe + 315 μ L Verdünnungspuffer

8 TESTVERFAHREN

8.1 Zur Verfügung gestelltes Material

Taenia solium IgG ELISA Kit

8.2 Erforderliche, aber nicht bereitgestellte Materialien

- Pipetten
- Spritzflasche mit enger Spitze
- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Röhrchen zur Probenverdünnung
- Saugfähiges Papier
- Labor-Kurzzeitwecker

8.3 Empfohlenes Material

- Mikrotiterplatten-Lesegerät mit 450 nm und 650 - 620 nm-Filter

8.4 Testdurchführung

1. Brechen Sie die benötigte Anzahl Wells ab (zwei für die Kontrollen und eines für jede Probe) und setzen Sie sie in den Streifenhalter.
2. Geben Sie **100 µL** negative Kontrolle in Well 1, **100 µL** positive Kontrolle in Well 2 und **100 µL** der verdünnten (1:64) Proben in die verbliebenen Wells.

Negative und positive Kontrollen werden vorverdünnt geliefert. NICHT weiter verdünnen.

3. Bei Raumtemperatur (15 °C bis 25 °C) 10 Minuten lang inkubieren.
4. Den Inhalt herausschütteln. 3-mal mit verdünntem Waschpuffer waschen.*
Klopfen Sie nach dem letzten Waschschrift die Wells auf einem sauberen, saugfähigen Tuch aus, um überschüssigen Waschpuffer zu entfernen.
5. 2 Tropfen (100 µL) Enzym-Konjugat zu jedem Well hinzufügen.
6. Bei Raumtemperatur (15 °C bis 25 °C) 5 Minuten lang inkubieren.
7. Den Inhalt herausschütteln. 3-mal mit verdünntem Waschpuffer waschen.*
Klopfen Sie nach dem letzten Waschschrift die Wells auf einem sauberen, saugfähigen Tuch aus, um überschüssigen Waschpuffer zu entfernen.
8. 2 Tropfen (100 µL) Chromogen zu jedem Well hinzufügen.
9. Bei Raumtemperatur (15 °C bis 25 °C) 5 Minuten lang inkubieren.
10. 2 Tropfen (100 µL) Stopplösung zu jedem Well hinzufügen.
Den Inhalt der Wells vorsichtig mischen, indem Sie etwa 15 Sekunden lang mit dem Zeigefinger an die Seite des Streifenhalters klopfen.

* Falls ein Waschautomat verwendet wird: 1 Minute Verweilzeit zwischen den Waschvorgängen zugeben und die Anzahl der Waschschrift von drei auf fünf erhöhen.

Achten Sie darauf, dass sich keine Luftblasen in den Wells bilden, da dies die Ergebnisse beeinflussen kann.

9 ABLESEN DER ERGEBNISSE

Visuell:

Betrachten Sie jedes Well vor einem weißen Hintergrund und notieren Sie, ob die Farbe klar ist bzw. eine Reaktion der Stärke +, ++ oder +++ vorliegt.

ELISA Reader:

Stellen Sie den Nullpunkt des ELISA-Readers ein durch Messung gegen Luft.

Messen Sie die Absorption in den Wells bei 450 nm mit einem Referenzfilter bei 650 - 620 nm

10 QUALITÄTSKONTROLLE

Die Verwendung von Kontrollen ermöglicht eine Überprüfung der Stabilität des Kits. Der Kit sollte nicht verwendet werden, wenn eine der Kontrollen außerhalb des entsprechenden Bereichs liegt.

Die für die Kontrollen erwarteten Werte sind:

Negativ: 0.0 bis 0.2 OD-Einheiten.

Positiv: 0.5 OD-Einheiten und darüber.

(OD = Optische Dichte)

11 FEHLERBEHEBUNG

Die negative Kontrolle zeigt nach dem Entwickeln eine starke Farbreaktion.

Ursache: ungenügendes Waschen.

Abhilfemaßnahme: intensiveres Waschen. Entfernen überschüssiger Flüssigkeit aus den Wells durch Ausklopfen auf einem saugfähigen Tuch. Lassen Sie die Wells nicht austrocknen.

12 INTERPRETATION DER ERGEBNISSE**12.1 Interpretation der Ergebnisse - ELISA Readers**

Messen Sie die Absorption in den Wells bei 450/650 - 620 nm

Positiv: Die Absorption ist gleich oder größer als 0.3 OD-Einheiten.

Negativ: Die Absorption ist geringer als 0.3 OD-Einheiten.

Ein positives Ergebnis zeigt an, dass der Patient mit *T. solium* oder einem nah verwandten Organismus (z.B. *Echinococcus*) angesteckt sein kann.

Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass bei dem Patienten kein Antikörper nachgewiesen werden kann. Dies kann auf das Nichtvorhandensein einer Infektion oder auf eine schwache Immunreaktion beim Patienten zurückzuführen sein.

12.2 Interpretation der Ergebnisse - Visuell

Vergleichen Sie Ergebnisse der Patienten mit den Kontrollen. Eine Probe sollte als positiv interpretiert werden, wenn eine Farbentwicklung deutlich erkennbar ist.

13 GRENZEN DES TESTVERFAHRENS

Serologische Resultate sollen die Diagnose unterstützen, dürfen aber nicht als alleinige Methode zur Diagnosestellung eingesetzt werden.

Bei diesem Assay kommt es zu einer deutlichen Kreuzreaktion im Fall einer *Echinococcus*-Infektion. Wenn eine *Echinococcus*-Infektion nicht ausgeschlossen werden kann, sollte ein positives Resultat durch eine andere Methode (d. h. durch einen von den Centers for Disease Control and Prevention (Gesundheitsbehörde in den USA) angebotenen Immunoblot) oder durch eine andere, nicht-serologische Methode bestätigt werden.

14 ERWARTETE ERGEBNISSE

Die Anzahl der Personen, für die ein positives Ergebnis ermittelt wird, kann zwischen einzelnen Populationen bzw. geografischen Regionen stark variieren. Wenn möglich, sollte jedes Labor einen Bereich erwarteter Werte für seine Patientenpopulation ermitteln.

15 LEISTUNGSKENNZEICHEN

		Referenzmethode	
		+	-
EIA-3513	+	72	2
	-	10	46

15.1 Empfindlichkeit

Dreißig Proben, mit Immunoblot positiv auf Cysticercosis-Infektion getestet, wurden mit dem ELISA (EIA-3513) geprüft; 26/30 Proben waren positiv im ELISA (EIA-3513). Daraus ergibt sich eine Empfindlichkeit von 87 % gegen den Immunoblot.

Zweiundfünfzig Proben, mit einem anderen ELISA positiv auf Cysticercosis-Infektion getestet, wurden in den ELISA (EIA-3513) geprüft; 46/52 Probe war positiv im ELISA (EIA-3513). Daraus ergibt sich eine Empfindlichkeit von 88 % gegen einen anderen ELISA.

15.2 Spezifität

Achtundvierzig normale Proben wurden in den ELISA (EIA-3513) geprüft; 46/48 Probe war negativ im ELISA (EIA-3513). Daraus ergibt sich eine Spezifität von 96 %.

1 USO INTESO

Per uso diagnostico in vitro.

Si prega di consultare le dettagliate istruzioni per l'uso in inglese.

2 PRINCIPIO DEL TEST

Si prega di consultare le dettagliate istruzioni per l'uso in inglese.

3 REAGENTI

Item	Description	Symbol
Micropiastra	Una micropiastra (12 x 8 pozzetti staccabili) rivestita con dell'antigene T. solium.	MT PLATE
Coniugato Enzimatico	1 bottiglia 11 mL proteina A coniugate con perossidasi	CONJ
Controllo Positivo	1 flacone 1 mL Il siero diluito positivo.	CONTROL +
Controllo Negativo	1 flacone 1 mL siero diluito, negativo.	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.	WASH BUF
Tampone di Diluizione	2 bottiglie 30 mL Soluzione di proteina di buffered.	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 2 °C - 8 °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.

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.

Non aggiungere azidi ai campioni o ad alcuno dei reagenti.

Separate le punte della pipetta per ogni campione e dei reagenti per evitare la contaminazione incrociata

I reattivi devono essere controllati per la prova di contaminazione batterica o fungina

Non riutilizzare micropozzi

Tutti i componenti di questo kit sono stati standardizzati come un'unità. Non confondere i componenti di diversi kit partite o altri produttori kit

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.

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

Siero o plasma (EDTA-, Eparina- or citrate plasma) dovrebbero essere magazzinati ben chiusi fino a 5 giorni a 2 °C - 8 °C.

Campioni magazzinetti per un periodo più lungo (12 mesi) dovrebbero essere congelati a ≤ 20 °C.

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

Analisi dei campioni:

Eseguire una diluizione dei campione dei pazienti in un rapporto di **1:64**, utilizzando il tampone di diluizione (p.es. 5 μ L campione e 315 μ L tampone di diluizione)..

8 PROCEDURA DEL TEST

8.1 Materiali forniti

Taenia solium IgG ELISA Kit

8.2 Materiali richiesti ma non in dotazione

- Pipette
- bottiglia comprimibile con punta stretta
- Acqua distillata o deionizzata in vetro
- provette per le diluizioni
- un panno assorbente
- Timer

8.3 Materiali suggeriti

Lettole per strisce di micropozzetti in grado di leggere a lunghezze d'onda di 450 & 620-650 nm

8.4 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 μ L** di controllo negativo nel pozzetto n. 1, **100 μ L** di controllo positivo nel pozzetto n. 2 e **100 μ L** dei campioni di analisi diluiti (1:64) nei pozzetti rimanenti.

I controlli 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.*
Dopo l'ultima fase di lavaggio, battere i pozzetti su un panno assorbente pulito per asportare il tampone di lavaggio in eccesso.
5. Aggiungere **2 gocce (100 μ L)** di coniugato enzimatico in ciascun pozzetto.
6. Incubare a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) per **5 minuti**.
7. Eliminare il contenuto e lavare per 3 volte con tampone di lavaggio diluito.*
Dopo l'ultima fase di lavaggio, battere i pozzetti su un panno assorbente pulito per asportare il tampone di lavaggio in eccesso.
8. Aggiungere **2 gocce (100 μ L)** di cromogeno in ciascun pozzetto.
9. Incubare a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) per **5 minuti**.
10. Aggiungere **2 gocce (100 μ L)** di soluzione di arresto in ciascun pozzetto. Miscelare i pozzetti battendo leggermente il lato del supporto con il dito indice per circa **15 secondi**.

* 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 +++.

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

I valori previsti per i controlli sono:

Negativo: 0.0 to 0.2 unità OD

Positivo: 0.5 unità OD e superiori

11 RISOLUZIONE DEI PROBLEMI

il controllo negativo presenta una colorazione eccessiva dopo lo sviluppo.

Motivo: lavaggi inadeguati.

Correzione: lavare più vigorosamente. Eliminare dai pozzetti il liquido in eccesso battendo contro un panno assorbente. Non lasciare seccare i pozzetti di analisi.

12 INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

12.1 Interpretazione dei risultati:- Letture ELISA

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

Positivo – Valore di assorbanza maggiore di o uguaglia a 0.3 unità OD

Negativo – Valore di assorbanza minore di 0.3 unità OD

Un risultato OD negativo indica che il paziente non ha livelli rilevabili di anticorpi. Ciò può essere dovuto all'assenza di infezione o a una scarsa risposta immunitaria del paziente.

Una lettura di OD positiva indica il paziente potrebbe essere contagiato dal T.solium o un organismo attentamente raccontato (per esempio Echinococcus).

12.2 Interpretazione dei risultati:- Visivamente

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.

In questo dosaggio si verificherà una marcata reazione crociata con le infezioni da Echinococco. Se l'infezione da Echinococco non può essere esclusa nella diagnosi differenziale, la conferma di un campione positivo deve essere ottenuta con altre metodiche (ovvero immunoblot offerto dai CDC) o altri metodi non sierologici.

14 VALORI ATTESI

Il numero di individui che evidenzia risultati positivi può variare notevolmente tra popolazioni e regioni geografiche. Se possibile, ciascun laboratorio deve stabilire un intervallo previsto per la propria popolazione di pazienti.

15 CARATTERISTICHE DI RENDIMENTO

		Metodo di riferimento	
		+	-
EIA-3513	+	72	2
	-	10	46

15.1 La sensibilità

Trenta campioni positivi dall'immunoblot per l'infezione di cysticercosis sono stati testato nell'attrezzatura di ELISA EIA-3513; 26/30 campioni erano positivi nello EIA-3513 ELISA che dà una sensibilità di 87% contro l'immunoblot.

I campioni di cinquanta-due positivi da un altro ELISA per l'infezione di cysticercosis sono stati testato nell'attrezzatura di ELISA v; 46/52 campioni erano positivi nello EIA-3513 ELISA che dà una sensibilità di 88% contro altro ELISA.

15.2 La specificità

I quaranta-otto i campioni normali sono stati testato nell'attrezzatura di ELISA EIA-3513; 46/48 campioni erano negativi nello EIA-3513 ELISA che dà una specificità di 96%.

1 INTRODUCCIÓN

Este ensayo está diseñado solo para diagnóstico in vitro.

2 FUNDAMENTO DEL ENSAYO

Consultar el manual de usuario en inglés.

3 REACTIVOS

Item	Description	Symbol
Microplaca	Una microplaca (12 x 8 pocillos separables) revestida con de antígeno T.solium.	MT PLATE
Conjugado Enzimático	1 Recipiente 11 mL la protein A conjugada con peroxidasa.	CONJ
Control Positivo	1 vial 1 mL suero positivo diluido.	CONTROL +
Control Negativo	1 vial 1 mL suero, negativo y diluido.	CONTROL -
Chromogen TMB	1 Recipiente 11 mL chromogen tetrametilbenzidina (TMB).	SUBS TMB
El Concentrado Para Lavado (20X)	1 Recipiente 25 mL búfer y surfactant concentrados.	WASH BUF
De Solución Amortiguadora Para Dilución	2 Recipientes 30 mL de solución amortiguadora de proteína.	SPECM DIL
Solución Quelante	1 Recipiente 11 mL 1 M ácido fosfórico.	SOLN

4 PRECAUCIONES

No utilizar soluciones que precipitan o se ponen turbias. El concentrado para lavado puede mostrar cristalización cuando se almacena a 2 °C - 8 °C. La cristalización desaparecerá después de la dilución hasta la potencia de trabajo.

No usar suero que pueda haber tenido crecimiento microbiano o que se encuentre turbio debido a un alto contenido lipídico. Las muestras con altos contenidos de lípidos se deben clarificar antes de usar.

Tratar todos los reactivos y pruebas como si pudieran ser infecciosos. Los controles se han analizado por medio de los métodos de prueba requeridos y se ha encontrado negativo para el antígeno de superficie de la hepatitis B y el anticuerpo contra el VIH. Este producto se debe usar bajo las condiciones adecuadas de seguridad que se usarían con cualquier agente potencialmente infeccioso.

No agregar azidas a las muestras ni a ninguno de los reactivos.

Usa distintas puntas de pipeta para cada una de las muestras y reactivos para evitar la contaminación cruzada.

Los reactivos deben inspeccionarse en busca de evidencias de contaminación bacteriana o micótica

No reutilizar microvaloración

Todos los componentes de este kit se han estandarizado como una unidad. No mezclar componentes de diferentes lotes de juegos o de otros fabricantes.

5 CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

Reactivos, tiras reactivas y componentes en frascos: Almacenar entre 2 °C - 8 °C.

La botella comprimible que contiene la solución amortiguadora para lavado se puede almacenar a temperatura ambiente.

6 PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Solución amortiguadora para lavado:

Retirar la tapa y agregar el contenido de la botella a 475 mL de agua para reactivos. Colocar la solución amortiguadora para lavado diluida en una botella comprimible con una abertura de punta estrecha.

Nota: Los lavados consisten en llenar cada pocillo hasta arriba, agitar el contenido y rellenar.

Evitar la generación de burbujas en los pocillos durante las etapas del lavado.

7 TOMA DE MUESTRAS

Las muestras (suero o plasma EDTA, Heparina o citrato) deben ser tapadas y pueden ser almacenadas hasta 5 días a 2 °C a 8 °C antes del ensayo.

Las muestras almacenadas por un período de tiempo mas largo (al menos un año) han de congelarse sólo una vez a -20 °C antes del ensayo.

No calentar muestras inactivas y evitar la congelación y la descongelación repetidas de las muestras.

Muestras de prueba:

Preparar una dilución **1:64** de muestras de los pacientes utilizando la solución amortiguadora para dilución:
por ejemplo: 5 µL muestra + 315 µL solución amortiguadora para dilución

8 PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

8.1 Materiales entregados

Taenia solium IgG ELISA

8.2 Materiales necesarios pero no suministrados

- Pipetas
- Botella comprimible con una abertura de punta estrecha.
- Agua destilada o desionizada.
- Tubos para dilución de muestras
- Toalla absorbente limpia
- Temporizador

8.3 Materiales recomendados

Lector ELISA con a 450 nm con un filtro de referencia a 620-650 nm

8.4 Procedimiento de la prueba

1. Cortar la cantidad de pocillos necesarios (dos para los controles más el número de muestras y uno para el blanco si se utiliza) y colocarlos en el soporte.
2. Agregar **100 µL** de control negativo al pocillo N° 1, **100 µL** de control positivo al pocillo N° 2 y **100 µL** de las muestras de prueba diluidas (1:64) a los pocillos restantes.

Los controles negativos y positivos se suministran prediluidos. NO diluir más.

3. Incubar a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) durante **10 minutos**.
4. Agitar el contenido y lavar 3 veces con solución amortiguadora para lavado.*
Después del último paso de lavado, golpear los pocillos sobre una toalla absorbente limpia para eliminar el exceso de solución amortiguadora para lavado.
5. Agregar **2 gotas (100 µL)** de conjugado enzimático en cada pocillo.
6. Incubar a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) durante **5 minutos**
7. Agitar el contenido y lavar 3 veces con solución amortiguadora para lavado.*
Después del último paso de lavado, golpear los pocillos sobre una toalla absorbente limpia para eliminar el exceso de solución amortiguadora para lavado.
8. Agregar **2 gotas (100 µL)** de Chromogen en cada pocillo.
9. Incubar a temperatura ambiente (15 °C - 25 °C) durante **5 minutos**
10. Agregar **2 gotas (100 µL)** de solución quelante en cada pocillo. Mezclar los pocillos golpeando suavemente el lado del soporte con el dedo índice durante aproximadamente **15 segundos**.

* Si se usa lavadores automáticos: añada 1 minuto de tiempo de permanencia entre los lavados y aumente el número de lavados de tres a cinco.

Evitar la generación de burbujas en los pocillos durante las etapas del lavado.

9 LA LECTURA DE RESULTADOS

Visualmente :

Observar cada pocillo contra un fondo blanco y registrar como transparente o como reacción +, ++ ó +++.

Lector ELISA:

Poner a cero el lector ELISA con aire en blanco o bien, utilizando el tampón de dilución de la muestra, leer los pocillos a 450/650 - 620 nm.

10 CONTROL DE CALIDAD

El uso de controles permite la validación de la estabilidad del kit. El kit no se debe usar si alguno de los controles se encuentra fuera de rango.

Los valores esperados para los controles son:

Negativo: 0.0 - 0.2 Unidades OD

Positivo: 0.5 Unidades OD y más

11 RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS

El control negativo tiene un exceso de color después del desarrollo

Motivo: lavados insuficientes

Corrección: lavar más vigorosamente. Eliminar el exceso de líquido de los pocillos golpeando contra una toalla absorbente. No dejar que los pocillos de prueba se sequen.

12 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

12.1 Interpretación de los resultados- Lector ELISA

Leer los pocillos a 450/650 - 620 nm.

Positivo – Lectura de absorbancia mayor que o iguala a 0,3 unidades OD

Negativo – Lectura de absorbancia menor que 0,3 unidades OD

Una lectura OD negativa indica que el paciente no tiene un nivel detectable de anticuerpos. Eso se puede deber a la ausencia de infección o a una respuesta inmunitaria deficiente del paciente.

Un leer positivo de la SOBREDOSIS indica el paciente puede ser infectado por T.solium o un organismo estrechamente relacionado (por ejemplo Echinococcus).

12.2 Interpretación de los resultados - Visualmente

Una muestra se debe interpretar como positiva si el grado de desarrollo del color es obvio y significativo.

13 LIMITACIONES

Los resultados serológicos se deben usar como ayuda en el diagnóstico y no se deben interpretar como diagnósticos por sí solos.

En este ensayo se producirán reacciones cruzadas significativas con las infecciones por Echinococcus. Si la infección por Echinococcus no se puede descartar en el diagnóstico diferencial, se debe confirmar una muestra positiva por otros medios (inmunoblot ofrecido por el CDC) o por otros medios no serológicos.

14 RESULTADOS ESPERADOS

El número de personas con resultados positivos varía significativamente entre poblaciones y regiones geográficas. De ser posible, cada laboratorio debe establecer un rango esperado para su población de pacientes.

15 CARACTERISTICAS DE RENDIMIENTO

		Método de referencia	
		+	-
EIA-3513	+	72	2
	-	10	46

15.1 La sensibilidad

Treinta positivo de muestras por inmunoblot para la infección de cysticercosis fue probado en el juego de ELISA (EIA-3513); 26/30 muestras fueron positivas en el ELISA (EIA-3513) que da una sensibilidad de 87% contra el inmunoblot.

Cincuenta y dos positivo de muestras por otro ELISA para la infección de cysticercosis fue probado en el juego de ELISA (EIA-3513); 46/52 muestras fueron positivas en el ELISA (EIA-3513) que da una sensibilidad de 88% contra el otra ELISA.

15.2 La especificidad

Cuarenta y ocho muestras normales fueron probadas en el juego de ELISA (EIA-3513); 46/48 muestras fueron negativas en el ELISA (EIA-3513) que da una especificidad de 96%.

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