



# SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

## Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!  
See the following pages for more information!



### Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

### Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

### SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

[mail@szabo-scandic.com](mailto:mail@szabo-scandic.com)

[www.szabo-scandic.com](http://www.szabo-scandic.com)

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 

**NovaLisa®**

# Strongyloides

**ELISA**

CE

**Only for in-vitro diagnostic use**

English .....	2
Deutsch .....	6
Bibliography / Literatur / Bibliographie / Bibliografia / Bibliografía .....	13
Abbreviations / Abkürzungen / Abréviations / Abbreviazioni / Abreviaciones / Abreviaturas .....	13
Symbols Key / Symbolschlüssel / Explication des Symboles / Legenda / Símbolos / Tabela de símbolos .....	14
Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Résumé de la procédure de test / Schema della procedura / Resumen de la técnica / Resumo do Procedimento de Teste .....	15

---

Product Number:      STRO0690 (96 Determinations)

---

## ENGLISH

### 1. INTRODUCTION

---

*Strongyloides* is a genus containing some 50 species of obligate gastrointestinal parasites of vertebrates. *Strongyloides stercoralis* is the scientific name of a human parasitic roundworm causing the disease of strongyloidiasis. Its common name is pinworm in the UK and threadworm in the US. The *Strongyloides stercoralis* nematode can parasitize humans. The adult parasitic stage lives in tunnels in the mucosa of the small intestine.

*S. stercoralis* can be found in areas with tropical and subtropical climates but cases also occur in temperate area, more frequently in rural areas. *S. stercoralis* has a very low prevalence in societies where fecal contamination of soil or water is rare. Many people infected are usually asymptomatic at first. Symptoms include dermatitis: swelling, itching, larva currens, and mild hemorrhage at the site where the skin has been penetrated. If the parasite reaches the lungs, the chest may feel as if it is burning, and wheezing and coughing may result, along with pneumonia-like symptoms (Löffler's syndrome). The intestines could eventually be invaded, leading to burning pain, tissue damage, sepsis, and ulcers. In severe cases, edema may result in obstruction of the intestinal tract, as well as loss of peristaltic contractions. *Strongyloides* infection in immunocompromised individuals (particularly following the administration of steroids, for example following transplant surgery) can result in disseminated strongyloidiasis, in which worms move beyond the confines of the gut into other organs. This is fatal unless anti-*Strongyloides* therapy is given.

Locating juvenile larvae, either rhabditiform or filariform, in recent stool samples will confirm the presence of this parasite. Other techniques used include direct fecal smears, culturing fecal samples on agar plates, serodiagnosis through ELISA, and duodenal fumigation.

### 2. INTENDED USE

---

The Strongyloides ELISA is intended for the qualitative determination of antibodies against Strongyloides in human serum or plasma (citrate or heparin).

### 3. PRINCIPLE OF THE ASSAY

---

The qualitative immunoenzymatic determination of IgG and IgM antibodies against Strongyloides is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microtiter strip wells are precoated with recombinant Strongyloides antigens to bind corresponding antibodies of the specimen. After washing the wells to remove all unbound sample material horseradish peroxidase (HRP) labelled anti-human IgG and IgM conjugate is added. This conjugate binds to the captured Strongyloides -specific antibodies. The immune complex formed by the bound conjugate is visualized by adding Tetramethylbenzidine (TMB) substrate which gives a blue reaction product. The intensity of this product is proportional to the amount of Strongyloides -specific antibodies in the specimen. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450 nm is read using an ELISA microwell plate reader.

### 4. MATERIALS

---

#### 4.1. Reagents supplied

- **Strongyloides Coated Wells:** 12 breakapart 8-well snap-off strips coated with recombinant Strongyloides antigens in resealable aluminium foil.
- **Sample Diluent:** 1 bottle containing 100 ml of phosphate buffer (10 mM) for sample dilution; pH 7.2 ± 0.2; coloured yellow; ready to use; white cap. < 0.1 % MIT, < 0.1% CMIT, < 0.1% NaN<sub>3</sub>
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 ml sulphuric acid, 0.2 mol/l; ready to use; red cap.
- **Washing Solution (20x conc.):** 1 bottle containing 50 ml of a 20-fold concentrated phosphate buffer (0.2 M); pH 7.2 ± 0.2; for washing the wells; white cap. < 1% Ethanol, < 0.5% Bromonitrodioxane
- **Strongyloides Conjugate:** 1 bottle containing 20 ml of peroxidase labelled antibody to human IgG/IgM; in phosphate buffer (10 mM); coloured blue, ready to use; black cap. < 1% Ethanol, < 0.5% Bromonitrodioxane
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 ml 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) (< 0.04%); ready to use; yellow cap. < 0.0001% CMIT, < 0.0001% MIT, < 0.01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- **Strongyloides Positive Control:** 1 bottle containing 2 ml control (human serum or plasma); coloured yellow; ready to use; red cap. < 0.1% Bromonitrodioxan, < 0.1% MIT
- **Strongyloides Cut-off Control:** 1 bottle containing 3 ml control (human serum or plasma); coloured yellow; ready to use; green cap. < 0.1% Bromonitrodioxan, < 0.1% MIT
- **Strongyloides Negative Control:** 1 bottle containing 2 ml control (human serum or plasma); coloured yellow; ready to use; blue cap. < 0.1 % MIT, < 0.1% CMIT, < 0.1% NaN<sub>3</sub>

#### 4.2. Materials supplied

- 1 Strip holder
- 1 Cover foil
- 1 Test protocol
- 1 Distribution and identification plan

### 4.3. Materials and Equipment needed

- ELISA microwell plate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450/620 nm
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µl
- Vortex tube mixer
- Deionised or (freshly) distilled water
- Disposable tubes

## 5. STABILITY AND STORAGE

---

Store the kit at 2...8 °C. The opened reagents are stable up to the expiry date stated on the label when stored at 2...8 °C.

## 6. REAGENT PREPARATION

---

It is very important to bring all reagents, samples and standards/controls to room temperature (20...25 °C) before starting the test run!

### 6.1. Coated snap-off strips

The ready to use break-apart snap-off strips are coated with recombinant Strongyloides antigens. Immediately after removal of the strips, the remaining strips should be resealed in the aluminium foil along with the desiccant supplied and stored at 2...8 °C.

### 6.2. Washing Solution (20x conc.)

Dilute Washing Solution 1 + 19; e. g. 10 ml Washing Solution + 190 ml fresh and germ free redistilled water. The diluted buffer is stable for 5 days at room temperature. Crystals in the concentrate disappear by warming up to 37 °C in a water bath.

### 6.3. TMB Substrate Solution

The reagent is ready to use and has to be stored at 2...8 °C, away from the light. The solution should be colourless or could have a slight blue tinge. If the substrate turns into blue, it may have become contaminated and should be thrown away.

## 7. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

---

Use human serum or plasma (citrate or heparin). If the assay is performed within 5 days after sample collection, the specimens should be kept at 2...8 °C; otherwise they should be aliquoted and stored deep-frozen (-70...-20 °C). If samples are stored frozen, mix thawed samples well before testing. Avoid repeated freezing and thawing. Heat inactivation of samples is not recommended.

### 7.1. Sample Dilution

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with Sample Diluent. Dispense 10 µl sample and 1 ml Sample Diluent into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

## 8. ASSAY PROCEDURE

---

### 8.1. Test Preparation

Please read the test protocol carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the test protocol as described. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend increasing the washing steps from three to five and the volume of Washing Solution from 300 µl to 350 µl to avoid washing effects. Pay attention to chapter 12. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all specimens and standards/controls should be carefully established on the result sheet supplied in the kit. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Please allocate at least:

1 well	(e. g. A1)	for the Substrate Blank,
1 well	(e. g. B1)	for the Negative Control,
2 wells	(e. g. C1+D1)	for the Cut-off Control and
1 well	(e. g. E1)	for the Positive Control

It is recommended to determine standards/controls and patient samples in duplicate.

Perform all assay steps in the order given and without any appreciable delays between the steps.

A clean, disposable tip should be used for dispensing each standard/control and sample.

Adjust the incubator to 37 ± 1 °C.

1. Dispense 100 µl standards/controls and diluted samples into their respective wells. Leave well A1 for the Substrate Blank.
2. Cover wells with the foil supplied in the kit.
3. **Incubate for 1 hour ± 5 min at 37 ± 1 °C.**
4. When incubation has been completed, remove the foil, aspirate the content of the wells and wash each well three times with 300 µl of Washing Solution. Avoid overflows from the reaction wells. The soak time between each wash cycle should be > 5 sec. At the end carefully remove remaining fluid by tapping strips on tissue paper prior to the next step!

Note: Washing is critical! Insufficient washing results in poor precision and falsely elevated absorbance values.

5. Dispense 100 µl Strongyloides Conjugate into all wells except for the Substrate Blank well (e. g. A1). Cover with foil.
6. **Incubate for 30 min at room temperature.** Do not expose to direct sunlight.
7. Repeat step 4.
8. Dispense 100 µl TMB Substrate Solution into all wells.
9. **Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark.**
10. Dispense 100 µl Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate.  
Any blue colour developed during the incubation turns into yellow.
11. Measure the absorbance of the specimen at 450/620 nm within 30 min after addition of the Stop Solution.

## 8.2. Measurement

Adjust the ELISA Microwell Plate Reader **to zero** using the **Substrate Blank in well A1**.

If - due to technical reasons - the ELISA reader cannot be adjusted to zero using the Substrate Blank in well A1, subtract the absorbance value of well A1 from all other absorbance values measured in order to obtain reliable results!

**Measure the absorbance** of all wells at **450 nm** and record the absorbance values for each standard/control and patient sample in the distribution and identification plan.

Dual wavelength reading using 620 nm as reference wavelength is recommended.

Where applicable calculate the **mean absorbance values** of all duplicates.

## 9. RESULTS

### 9.1. Run Validation Criteria

In order for an assay to be considered valid, the following criteria must be met:

- **Substrate Blank** in A1: Absorbance value **< 0.100**
- **Negative Control** in B1: Absorbance value **< 0.200 and < Cut-off**
- **Cut-off Control** in C1 and D1: Absorbance value **0.150 – 1.300**
- **Positive Control** in E1: Absorbance value **> Cut-off**

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

### 9.2. Calculation of Results

The Cut-off is the mean absorbance value of the Cut-off Control determinations.

Example: Absorbance value Cut-off Control 0.44 + absorbance value Cut-off control 0.42 = 0.86 / 2 = 0.43

Cut-off = 0.43

#### 9.2.1. Results in Units [NTU]

$\frac{\text{Patient (mean) absorbance value} \times 10}{\text{Cut-off}} = [\text{NovaTec Units} = \text{NTU}]$

Example:  $\frac{1.591 \times 10}{0.43} = 37 \text{ NTU (Units)}$

### 9.3. Interpretation of Results

Cut-off	10 NTU	-
Positive	> 11 NTU	Antibodies against the pathogen are present. There has been a contact with the antigen (pathogen resp. vaccine).
Equivocal	9 – 11 NTU	Antibodies against the pathogen could not be detected clearly. It is recommended to repeat the test with a fresh sample in 2 to 4 weeks. If the result is equivocal again the sample is judged as <b>negative</b> .
Negative	< 9 NTU	The sample contains no antibodies against the pathogen. A previous contact with the antigen (pathogen resp. vaccine) is unlikely.

Diagnosis of an infectious disease should not be established on the basis of a single test result. A precise diagnosis should take into consideration clinical history, symptomatology as well as serological data.

In immunocompromised patients and newborns serological data only have restricted value.

## 10. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### 10.1. Precision

<u>Interassay</u>	<u>n</u>	<u>Mean (NTU)</u>	<u>Cv (%)</u>
Positive Sample	24	22,11	5,52
Positive Sample	24	22,47	6,28
Negative Sample	24	6,09	8,52

<b>Intraassay</b>	<b>n</b>	<b>Mean (OD)</b>	<b>Cv (%)</b>
Positive Sample	24	0,604	5,74
Positive Sample	24	0,710	9,68
Negative Sample	24	0,323	4,61

### 11. 10.2. DIAGNOSTIC SPECIFICITY

---

The diagnostic specificity is defined as the probability of the assay of scoring negative in the absence of the specific analyte. It is 95,8%.

### 12. 10.3. DIAGNOSTIC SENSITIVITY

---

The diagnostic sensitivity is defined as the probability of the assay of scoring positive in the presence of the specific analyte. It is 87,9%

#### 12.1. Cross Reactivity

Cross reactions with antibodies against other worms and parasites cannot be excluded.

Note: The results refer to the groups of samples investigated; these are not guaranteed specifications.

### 13. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

---

Bacterial contamination or repeated freeze-thaw cycles of the specimen may affect the absorbance values.

### 14. PRECAUTIONS AND WARNINGS

---

- In compliance with article 1 paragraph 2b European directive 98/79/EC the use of the in vitro diagnostic medical devices is intended by the manufacturer to secure suitability, performances and safety of the product. Therefore the test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The test procedure, the information, the precautions and warnings in the instructions for use have to be strictly followed. The use of the testkits with analyzers and similar equipment has to be validated. Any change in design, composition and test procedure as well as for any use in combination with other products not approved by the manufacturer is not authorized; the user himself is responsible for such changes. The manufacturer is not liable for false results and incidents for these reasons. The manufacturer is not liable for any results by visual analysis of the patient samples.
- Only for in-vitro diagnostic use.
- All materials should be regarded and handled as potentially infectious.
- All components of human origin used for the production of these reagents have been tested for anti-HIV antibodies, anti-HCV antibodies and HBsAg and have been found to be non-reactive.
- Do not interchange reagents or strips of different production lots.
- No reagents of other manufacturers should be used along with reagents of this test kit.
- Do not use reagents after expiry date stated on the label.
- Use only clean pipette tips, dispensers, and lab ware.
- Do not interchange screw caps of reagent vials to avoid cross-contamination.
- Close reagent vials tightly immediately after use to avoid evaporation and microbial contamination.
- After first opening and subsequent storage check conjugate and standard/control vials for microbial contamination prior to further use.
- To avoid cross-contamination and falsely elevated results pipette patient samples and dispense reagents without splashing accurately to the bottom of wells.
- The ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.
- The concentrations of the hazardous materials mentioned in point 4.1. are very low. Therefore there is hardly any toxicological risk. Nevertheless rinse with plenty of water upon contact with eyes, skin or mucous membranes and consult a doctor in case of irritations. All solutions should be handled with adequate care.

#### 14.1. Disposal Considerations

Residues of chemicals and preparations are generally considered as hazardous waste. The disposal of this kind of waste is regulated through national and regional laws and regulations. Contact your local authorities or waste management companies which will give advice on how to dispose hazardous waste.

### 15. ORDERING INFORMATION

---

Prod. No.: STRO0690 Strongyloides-ELISA (96 Determinations)

# DEUTSCH

## 1. EINLEITUNG

---

Strongyloides ist eine Gattung die aus ca. 50 Spezies obligater gastrointestinaler Parasiten von Vertebraten besteht. Strongyloides stercoralis ist der wissenschaftliche Name des Zwergfadenwurms. Der Zwergfadenwurm ist ein Parasit des Menschen. In der adulten Phase lebt der Nematode in der Darmschleimhaut.

S. stercoralis kann in Gebieten mit tropischen und subtropischen Klima gefunden werden. Einige Fälle wurden aber auch aus gemäßigten Breiten berichtet. Infektionen finden üblicherweise in ländlichen Gebieten auf. Die Prävalenz von S. stercoralis ist gering in Gebieten in denen Verunreinigungen des Bodens und Wassers durch Fäkalien gering ist.

Viele Infizierte zeigen zunächst keine Symptome. Symptome können sein: Dermatitis, Anschwellen, Juckreiz und leichte Blutungen an der Penetrationsstelle. Wenn der Parasit die Lunge erreicht erfolgen brennende Schmerzen in Brustbereich und es kann zu Keuchen und Husten kommen, zusammen mit anderen Pneumonie ähnlichen Symptomen (Löfflers Syndrom). Der Darm kann befallen werden was zu brennenden Schmerzen, Gewebeschäden, Sepsis und Geschwüren führen kann. In schweren Fällen können Ödeme auftreten, welche den Darmtrakt blockieren können als auch der Verlust der peristaltischen Darmkontraktionen. Strongyloides Infektionen können in immunsupprimierten Individuen (z.B. nach Gabe von Steroiden nach einer Organtransplantation) zu einer verstreuten Strongyloidosis führen, bei der der Wurm über die Grenzen des Darms hinaus andere Organe befallen kann.

Die Anwesenheit von Parasiten kann über den Nachweis von Larven in frischen Stuhlproben erfolgen. Andere Methoden wären Fäkalabstriche, Kultivierung von fäkalen Proben und die Serodiagnose durch ELISA.

## 2. VERWENDUNGSZWECK

---

Der Strongyloides ELISA ist für den qualitativen Nachweis spezifischer Antikörper gegen Strongyloides in humanem Serum oder Plasma (Citrat oder Heparin).

## 3. TESTPRINZIP

---

Die qualitative immunenzymatische Bestimmung von spezifischen IgG/IgM Antikörpern gegen Strongyloides beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay)-Technik.

Mikrotiterstreifen als solide Phase sind beschichtet mit rekombinanten Strongyloides spezifischen Antigenen. Vorhandene spezifische Antikörper in der Probe binden an die immobilisierten Antigene der Mikrotiterplatte. Meerrettich-Peroxidase (HRP)-konjugierte anti-human-IgG/IgM Antikörper binden an Antigen-Antikörperkomplexe in positiven Proben. Die entstandenen Immunkomplexe werden durch Blaufärbung nach Inkubation mit Tetramethylbenzidin (TMB) -Substratlösung nachgewiesen. Stoppen der enzymatischen Reaktion mit Schwefelsäure führt zu einem Farbumschlag von blau zu gelb, der einfach nachgewiesen und mit einem ELISA-Reader bei 450 nm gemessen werden kann.

## 4. MATERIALIEN

---

### 4.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Strongyloides beschichtete Mikrotiterstreifen:** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit rekombinanten Strongyloides Antigenen in wieder verschließbarem Aluminiumbeutel.
- **Probenverdünnungspuffer:** 1 Flasche mit 100 ml Phosphatpuffer (10 mM) zur Probenverdünnung; pH 7.2 ± 0.2; gelb gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe. < 0,1 % MIT, < 0,1% CMIT, < 0,1% NaN<sub>3</sub>
- **Stopplösung:** 1 Fläschchen mit 15 ml Schwefelsäure, 0.2 mol/l, gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **Waschlösung (20x konz.):** 1 Flasche mit 50 ml eines 20-fach konzentrierten Phosphatpuffer (0,2 M) zum Waschen der Kavitäten; pH 7.2 ± 0.2; weiße Verschlusskappe. < 1% Ethanol, <0.5% Bromonitrodioxan
- **Strongyloides Konjugat:** 1 Flasche mit 20 ml Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen humanes IgG/IgM in Phosphatpuffer (10 mM); blau gefärbt; gebrauchsfertig; schwarze Verschlusskappe. < 1% Ethanol, <0.5% Bromonitrodioxan
- **TMB-Substratlösung:** 1 Fläschchen mit 15 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) (<0,04%); gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe. < 0,1 % MIT, < 0,1% CMIT, < 0,01% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
- **Strongyloides Positivkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 ml Kontrolle (humanes Serum oder Plasma); gelb gefärbt; rote Verschlusskappe; gebrauchsfertig. < 0.1% Bromonitrodioxan, < 0.1% MIT
- **Strongyloides Cut-off Kontrolle:** 1 Fläschchen mit 3 ml Kontrolle (humanes Serum oder Plasma); gelb gefärbt; grüne Verschlusskappe; gebrauchsfertig. < 0.1% Bromonitrodioxan, < 0.1% MIT
- **Strongyloides Negativkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 ml Kontrolle (humanes Serum oder Plasma); gelb gefärbt; blaue Verschlusskappe; gebrauchsfertig. < 0.1 % MIT, < 0.1% CMIT, < 0.1% NaN<sub>3</sub>

### 4.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Rahmenhalter
- 1 Arbeitsanleitung
- 1 Ergebnisblatt

### 4.3. Erforderliche Materialien und Geräte

- Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Feuchtkammer/Brutschrank mit Thermostat
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten mit Einmalspitzen (10 - 1000 µl)
- Vortex-Mischer
- Aqua dest.
- Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch

## 5. STABILITÄT UND LAGERUNG

---

Testkit bei 2...8 °C lagern. Die geöffneten Reagenzien sind bis zu den auf den Etiketten angegebenen Verfallsdaten verwendbar, wenn sie bei 2...8 °C gelagert werden.

## 6. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

---

Alle Reagenzien, Proben und Standards/Kontrollen sind vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25 °C) zu bringen!

### 6.1. Beschichtete Streifen

Die abbrechbaren Streifen sind mit rekombinanten Strongyloides Antigenen beschichtet. Nicht verbrauchte Vertiefungen im Aluminiumbeutel zusammen mit dem Trockenmittel sofort wieder verschließen und bei 2...8 °C lagern.

### 6.2. Waschlösung (20x konz.)

Der Inhalt wird auf einen Liter mit Aqua dest. verdünnt (1 + 19). Der verdünnte Puffer ist bei Raumtemperatur 5 Tage haltbar. Sollte eine Kristallisation im Konzentrat auftreten, die Waschlösung auf 37 °C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen.

### 6.3. TMB-Substratlösung

Die gebrauchsfertige Lösung ist bei 2...8 °C vor Licht geschützt aufzubewahren. Die Lösung ist leicht hellblau. Sollte die TMB-Substratlösung dunkelblau sein, ist sie kontaminiert und kann nicht im Test verwendet werden.

## 7. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

---

Es sollten humane Serum- oder Plasmaproben (Citrat oder Heparin). Werden die Bestimmungen innerhalb von 5 Tagen nach Blutentnahme durchgeführt, können die Proben bei 2...8 °C aufbewahrt werden, sonst tiefgefrieren (-70...-20 °C). Wieder aufgetaute Proben vor dem Verdünnen gut schütteln. Wiederholtes Tiefgefrieren und Auftauen vermeiden! Hitzeinaktivierung der Proben wird nicht empfohlen.

### 7.1. Probenverdünnung

Proben vor Testbeginn im Verhältnis 1 + 100 mit Probenverdünnungspuffer verdünnen, z. B. 10 µl Probe und 1 ml Probenverdünnungspuffer in die entsprechenden Röhrchen pipettieren, um eine Verdünnung von 1 + 100 zu erhalten; gut mischen (Vortex).

## 8. TESTDURCHFÜHRUNG

---

### 8.1. Testvorbereitung

Gebrauchsinformation **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Arbeitsanleitung genau zu befolgen. Die folgende Testdurchführung ist für die manuelle Methode validiert. Beim Arbeiten mit ELISA Automaten empfehlen wir, um Wascheffekte auszuschließen, die Zahl der Waschschriffe von drei auf fünf und das Volumen der Waschlösung von 300 µl auf 350 µl zu erhöhen. Kapitel 12 beachten. Vor Testbeginn auf dem mitgelieferten Ergebnisblatt die Verteilung bzw. Position der Patientenproben und der Standards/Kontrollen auf den Mikrotiterstreifen genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Hierbei mindestens

- |                |               |                                    |
|----------------|---------------|------------------------------------|
| 1 Vertiefung   | (z. B. A1)    | für den Substratleerwert (Blank),  |
| 1 Vertiefung   | (z. B. B1)    | für die Negativ Kontrolle,         |
| 2 Vertiefungen | (z. B. C1+D1) | für die Cut-off Kontrolle und      |
| 1 Vertiefung   | (z. B. E1)    | für die Positiv Kontrolle vorsehen |

Prinzipien der Qualitätssicherung in der Laboratoriumsmedizin erfordern zur höheren Sicherheit für Standards/Kontrollen und Patientenproben mindestens Doppelbestimmungen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

Für jeden Pipettierschritt der Standards/Kontrollen und Proben saubere Einmalspitzen verwenden.

Den Brutschrank auf 37 ± 1 °C einstellen.

1. Je 100 µl Standards/Kontrollen und vorverdünnte Proben in die entsprechenden Vertiefungen pipettieren. Vertiefung A1 ist für den Substratleerwert vorgesehen.
2. Die Streifen mit der mitgelieferten Abdeckfolie bedecken.
3. **1 h ± 5 min bei 37 °C inkubieren.**



4. Am Ende der Inkubationszeit Abdeckfolie entfernen und die Inkubationsflüssigkeit aus den Teststreifen absaugen. Anschließend dreimal mit 300 µl Waschlösung waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte > 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen mit den Öffnungen nach unten kurz auf Fließpapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.  
Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falsch erhöhten Messergebnissen führt!
5. 100 µl Strongyloides Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes vorgesehenen, pipettieren. Mit Folie abdecken.
6. **30 min bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.** Nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen.
7. Waschvorgang gemäß Punkt 4 wiederholen.
8. 100 µl TMB-Substratlösung in alle Vertiefungen pipettieren.
9. **Genau 15 min im Dunkeln bei Raumtemperatur (20...25 °C) inkubieren.**
10. In alle Vertiefungen 100 µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei Zugabe der TMB-Substratlösung pipettieren. Während der Inkubation gebildete blaue Farbe schlägt in gelb um.
11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen.

## 8.2. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes (Blank) in A1 den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers (ELISA-Readers) vornehmen.

Falls diese Eichung aus technischen Gründen nicht möglich ist, muss nach der Messung der Extinktionswert der Position A1 von allen anderen Extinktionswerten abgezogen werden, um einwandfreie Ergebnisse zu erzielen!

**Extinktion** aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben in das Ergebnisblatt eintragen.

Eine **bichromatische** Messung mit der Referenzwellenlänge 620 nm wird empfohlen.

Falls Doppel- oder Mehrfachbestimmungen durchgeführt wurden, den **Mittelwert der Extinktionswerte** berechnen.

## 9. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

---

### 9.1. Testgültigkeitskriterien

Der Test wurde richtig durchgeführt, wenn er folgende Kriterien erfüllt:

- **Substrat-Leerwert** in A1: Extinktion < **0,100**
- **Negativkontrolle** in B1: Extinktion < **0,200 und < Cut-off**
- **Cut-off Kontrolle** in C1 und D1: Extinktionswerte **0,150 – 1,300**
- **Positivkontrolle** in E1: Extinktionswerte > **Cut-off**

Sind diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Testlauf ungültig und muss wiederholt werden.

### 9.2. Messwertberechnung

Der Cut-off ergibt sich aus dem Mittelwert der gemessenen Extinktionen der beiden Cut-off Kontrollen.

Beispiel: 0,44 OD Cut-off Kontrolle + 0,42 OD Cut-off Kontrolle = 0,86 : 2 = 0,43

Cut-off = 0,43

#### 9.2.1. Ergebnisse in Einheiten [NTU]

$\frac{\text{Mittlere Extinktion der Patientenprobe} \times 10}{\text{Cut-off}} = \text{ [NovaTec Einheiten = NTU]}$

Beispiel:  $\frac{1,591 \times 10}{0,43} = 37 \text{ NTU}$

### 9.3. Interpretation der Ergebnisse

Cut-off	10 NTU	-
Positiv	> 11 NTU	Es liegen Antikörper gegen den Erreger vor. Ein Kontakt mit dem Antigen (Erreger bzw. Impfstoff) hat stattgefunden.
Grauzone	9 – 11 NTU	Antikörper gegen den Erreger können nicht eindeutig nachgewiesen werden. Es wird empfohlen den Test nach 2 bis 4 Wochen mit einer frischen Patientenprobe zu wiederholen. Finden sich die Ergebnisse erneut innerhalb der Grauzone, gilt die Probe als <b>negativ</b> .
Negativ	< 9 NTU	Es liegen keine Antikörper gegen den Erreger vor. Ein vorausgegangener Kontakt mit dem Antigen (Erreger bzw. Impfstoff) ist unwahrscheinlich.

Die Diagnose einer Infektionskrankheit darf nicht allein auf der Basis des Ergebnisses einer Bestimmung gestellt werden. Die anamnestischen Daten sowie die Symptomatologie des Patienten müssen zusätzlich zu den serologischen Ergebnissen in Betracht gezogen werden. Bei Immunsupprimierten und Neugeborenen besitzen die Ergebnisse serologischer Tests nur einen begrenzten Wert.

## 10. TESTMERKMALE

### 10.1. Präzision

<b>Interassay</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert (NTU)</b>	<b>Vk (%)</b>
Positive Probe	24	22,11	5,52
Positive Probe	24	22,47	6,28
Negative Probe	24	6,09	8,52

<b>Intraassay</b>	<b>n</b>	<b>Mittelwert (OD)</b>	<b>Vk (%)</b>
Positive Probe	24	0,604	5,74
Positive Probe	24	0,710	9,68
Negative Probe	24	0,323	4,61

### 11. 10.2. DIAGNOSTISCHE SPEZIFITÄT

Die diagnostische Spezifität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein negatives Ergebnis bei Fehlen des spezifischen Analyten zu liefern. Sie liegt bei 95,8%.

### 12. 10.3. DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT

Die diagnostische Sensitivität ist definiert als die Wahrscheinlichkeit des Tests, ein positives Ergebnis bei Vorhandensein des spezifischen Analyten zu liefern. Sie liegt bei 87,9%.

### 13. 10.4. INTERFERENZEN

Hämolytische, lipämische und ikterische Proben ergaben bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml für Hämoglobin, von 5 mg/ml Triglyceride und von 0,5 mg/ml für Bilirubin keine Interferenzen im vorliegenden ELISA.

### 14. 10.5. KREUZREAKTIVITÄT

Kreuzreaktivitäten mit Antikörpern gegen andere Würmer und Parasiten können nicht ausgeschlossen werden.

Hinweis: Die Ergebnisse beziehen sich auf die untersuchten Probenkollektive; es handelt sich nicht um garantierte Spezifikationen.

## 15. GRENZEN DES VERFAHRENS

Kontamination der Proben durch Bakterien oder wiederholtes Einfrieren und Auftauen können zu einer Veränderung der Messwerte führen.

## 16. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Gemäß Art. 1 Abs. 2b der EU-Richtlinie 98/79/EG legt der Hersteller die Zweckbestimmung von In-vitro-Diagnostika fest, um deren Eignung, Leistung und Sicherheit sicherzustellen. Daher sind die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung strikt zu befolgen. Bei Anwendung des Testkits auf Diagnostika-Geräten ist die Testmethode zu validieren. Jede Änderung am Aussehen, der Zusammensetzung und der Testdurchführung sowie jede Verwendung in Kombination mit anderen Produkten, die der Hersteller nicht autorisiert hat, ist nicht zulässig; der Anwender ist für solche Änderungen selbst verantwortlich. Der Hersteller haftet für falsche Ergebnisse und Vorkommnisse aus solchen Gründen nicht. Auch für falsche Ergebnisse aufgrund von visueller Auswertung wird keine Haftung übernommen.
- Nur für in-vitro-Diagnostik.
- Alle Materialien sind als potentiell infektiös anzusehen und entsprechend zu behandeln.
- Alle verwendeten Bestandteile menschlichen Ursprungs sind auf Anti-HIV-AK, Anti-HCV-AK und HBsAg nicht-reaktiv getestet.

- Reagenzien und Mikrotiterplatten unterschiedlicher Chargen nicht untereinander austauschen.
- Keine Reagenzien anderer Hersteller zusammen mit den Reagenzien dieses Testkits verwenden.
- Nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Nur saubere Pipettenspitzen, Dispenser und Labormaterialien verwenden.
- Verschlusskappen der einzelnen Reagenzien nicht untereinander vertauschen.
- Flaschen sofort nach Gebrauch fest verschließen, um Verdunstung und mikrobielle Kontamination zu vermeiden.
- Nach dem ersten Öffnen Konjugat und Standards/Kontrollen vor weiterem Gebrauch auf mikrobielle Kontamination prüfen.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontamination und falsch erhöhten Resultaten, Reagenzien sorgfältig in die Kavitäten pipettieren.
- Der ELISA ist nur für die Anwendung durch Fachpersonal vorgesehen, welches die Arbeitstechniken einwandfrei beherrscht.
- Die Konzentration, der unter Punkt 4.1. angegebenen gefährlichen Substanzen ist sehr gering. Daher ist es unwahrscheinlich, dass von ihnen ein toxikologisches Risiko ausgeht. Dennoch sollte bei Kontakt mit Augen, Haut oder Schleimhaut mit viel Wasser gespült werden und im Fall von Irritationen ein Arzt konsultiert werden. Alle Reagenzien sind mit der angemessenen Vorsicht zu behandeln.

### **16.1. Entsorgungshinweise**

Chemikalien und Zubereitungen sind in der Regel Sonderabfälle. Deren Beseitigung unterliegt den nationalen abfallrechtlichen Gesetzen und Verordnungen. Die zuständige Behörde informiert über die Entsorgung von Sonderabfällen.

### **17. BESTELLINFORMATIONEN**

---

Produktnummer:      STRO0690              Strongyloides-ELISA (96 Bestimmungen)







## BIBLIOGRAPHY / LITERATUR / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA

- Keiser PB, Nutman TB. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. Clin Microbiol Rev 2004;17(1):208-17.
- Tarr PE, Miele PS, Pere KS, et al., Case report: Rectal administration of ivermectin to a patient with *Strongyloides* hyperinfection syndrome. Am J Trop Med Hyg 2003;68(4):453-5.
- Fusco DN, Downs JA, Satlin MJ, et al. Non-oral treatment with ivermectin for disseminated strongyloidiasis. Am J Trop Med Hyg 2010;83(4):879-83.
- Strongyloidiasis, DPDx, Centers for Disease Control & Prevention
- Siddiqui AA, Berk SL; Diagnosis of *Strongyloides stercoralis* infection. Clin Infect Dis. 2001 Oct 1;33(7):1040-7. Epub 2001 Sep 5.
- Zaha O, Hirata T, Kinjo F, et al; Strongyloidiasis--progress in diagnosis and treatment. Intern Med. 2000 Sep;39(9):695-700.
- Chandrasekar et al; *Strongyloides stercoralis*, eMedicine, Oct 2014

## ABBREVIATIONS / ABKÜRZUNGEN / ABRÉVIATIONS / ABBREVIAZIONI / ABREVIACIONES / ABREVIATURAS

<b>MIT</b>	2-Methyl-2H-isothiazol-3-one
<b>CMIT</b>	5-Chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one
<b>NaN<sub>3</sub></b>	Sodium azide / Natriumazid
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hydrogen peroxide / Wasserstoffperoxid

**SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL / EXPLICATION DES SYMBOLES / LEGENDA / SIMBOLOS / TABELA DE SIMBOLOS**

	Manufactured by / Hergestellt von / Fabriqué par / Prodotto da / Fabricado por / Fabricado por
<b>IVD</b>	In Vitro Diagnostic Medical Device / In Vitro Diagnosticum / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Diagnostico in vitro / Producto para diagnóstico In vitro / Dispositivo Médico para Diagnóstico In Vitro
<b>LOT</b>	Lot Number / Chargenbezeichnung / Numéro de lot / Lotto / Número de lote / Número de lote
	Expiration Date / Verfallsdatum / Date de péremption / Scadenza / Fecha de caducidad / Data de Validade
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Température de conservation / Temperatura di conservazione / Temperatura de almacenamiento / Temperatura de Armazenamento
<b>CE</b>	CE Mark / CE-Zeichen / Marquage CE / Marchio CE / MarcaCE / Marca CE
<b>REF</b>	Catalogue Number / Katalog Nummer / Référence du catalogue / Numero di codice / Número de Catálogo / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulter la notice d'utilisation / Consultare le istruzioni / Consulte las Instrucciones de Uso / Consultar as Instruções de Utilização
<b>MTP</b>	Microplate / Mikrotiterplatte / Microplaque / Micropiastra / Microplaca / Microplaca
<b>CONJ</b>	Conjugate / Konjugat / Conjugué / Coniugato / Conjugado / Conjugado
<b>CONTROL -</b>	Control, negative / Kontrolle, negative / contrôle négatif / controllo, negativo / control negativo / controle negativo / controllo negativo
<b>CONTROL +</b>	Control, positive / Kontrolle, positiv / contrôle positif / controllo, positivo / control positivo / controllo positivo / controllo positivo
<b>CUT OFF</b>	Cut off control / Cut off Kontrolle / contrôle du Cut-off / controllo, Cut-off / control Cut-off / controllo Cut-off
<b>DIL</b>	Sample diluent buffer/Probenverdünnungspuffer / Tampon diluant pour échantillon / soluzione tampone per i campioni / solución tampón para muestras / Tampão diluente para amostras
<b>SOLN STOP</b>	Stop Solution / Stopplösung / Solution d'arrêt / Soluzione bloccante / Solução de paragem
<b>SUB TMB</b>	TMB Substrate solution / TMB-Substratlösung / Substrat TMB / soluzione substrato TMB / solución substrato TMB / Solução substrato TMB
<b>WASH BUF 20x</b>	Washing solution 20x concentrated / Waschlösung 20x konzentriert / Solution de lavage concentré 20 x / soluzione di lavaggio concentrazione x20 / solución de lavado concentrado x20 / Solução de lavagem concentrada 20x
	Contains sufficient for "n" tests / Ausreichend für "n" Tests / Contenu suffisant pour "n" tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenido suficiente para "n" tests / Conteúdo suficiente para "n" testes



# SCHEME OF THE ASSAY

Strongyloides-ELISA

## Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.  
 Establish the distribution and identification plan for all specimens and controls on the result sheet supplied in the kit.  
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

## Assay Procedure

	Substrate Blank (e. g. A1)	Negative Control	Cut-off Control	Positive Control	Sample (diluted 1+100)
Negative Control	-	100 µl	-	-	-
Cut-off Control	-	-	100 µl	-	-
Positive Control	-	-	-	100 µl	-
Sample (diluted 1+100)	-	-	-	-	100 µl
Cover wells with foil supplied in the kit <b>Incubate for 1 h at 37 °C</b> Wash each well three times with 300 µl of Washing Solution					
Conjugate	-	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Cover wells with foil supplied in the kit <b>Incubate for 30 min at room temperature</b> Wash each well three times with 300 µl of Washing Solution					
TMB Substrate	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
<b>Incubate for exactly 15 min at room temperature in the dark</b>					
Stop Solution	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)					

## NovaTec Immundiagnostica GmbH

### Technologie & Waldpark

Waldstr. 23 A6  
 D-63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 (0) 6074-48760 Fax: +49 (0) 6074-487629

Email: [info@NovaTec-ID.com](mailto:info@NovaTec-ID.com)

Internet: [www.NovaTec-ID.com](http://www.NovaTec-ID.com)

[STRO0690engl,dt - 19122014-AL]