

Strongyloides ratti IgG ELISA

Enzymkopplad immunabsorberande analys för diagnos av mänskliga strongyloidiasis

96 analyser på enskilda brunnar för in vitro diagnostisk användning och för professionell laboratorieanvändning



Instruktioner för användning av artikel N° 9450
UDI-DI: 07640158219454



Avsedd användning:

Bordier *Strongyloides ratti* IgG ELISA kitet är avsedd för kvalitativ upptäckt av IgG antikroppar mot *Strongyloides nematodes* i humant serum. Sereologi är ett hjälpmedel mot diagnoser och kan användas som ensam metod för diagnos.

Bakgrund:

Strongyloidiasis orsakas av nematoden *Strongyloides stercoralis*. Människor kan smittas genom att kontakta förorenad jord med *Strongyloides* larver, som kan komma perkutant in i kroppen genom exponerad hud, såsom nakna fötter. De flesta infekterade personer uppvisar inga symptom, eller de uppvisar ospecifiserade tecken som magont, illamående, diarré, hosta eller utslag. I vissa fall kan hyperinfektionssyndrom och disseminerad strongyloidiasis inträffa hos personer som är på kortikosteroider, andra immunsuppressiva terapier eller som lider av aids eller andra immunbrist. Diagnos baseras på upptäckt av parasitlarver i avföring och ett positivt resultat genom serologisk testning.

Princip och presentation:

Kitet ger alla material som behövs för att utföra 96 Enzymkopplad immunadsorberande analys (ELISA) på ömtåliga mikrotitrering brunnar sensibiliserade med *Strongyloides ratti* somatisk larv antigener. Specifika antikroppar i testet kommer att binda dessa antigener och tvättning kommer ta bort ospecifika antikroppar. Närvaron av parasit specifika serum antikroppar är upptäckt med Protein A - alkaliskt fosfatas konjugat. Ett andra tvättsteg kommer att avlägsna obundet konjugat. Återgivning av bundna antikroppar görs genom tillsats av pNPP-substrat som blir gult i närvaro av alkaliskt fosfatas. Färgintensiteten är proportionell mot mängden av *Strongyloides ratti* specifika antikroppar i provet. Kaliumfosfat tillsättes för att stoppa reaktionen. Absorbans vid 405 nm läses med användning av en ELISA-mikroplatta läsare.

Testet är manuellt men kan utföras med automatiska system, vilket måste valideras av användaren.

Material som ingår i kitet (96 provningar):

WELL	9450-01	Brytbara ELISA remsor sensibiliserade med <i>Strongyloides ratti</i> somatisk larv antigener	96	brunnar
DILB	9450-02	Spädningsbuffert (10 x) koncentrat, färgad lila	50	ml
WASH	9450-03	Tvättlösning (10 x) koncentrat	50	ml
ENZB	9450-04	Enzymlösning	50	ml
STOP	9450-05	Stopplösning (0.5M K ₃ PO ₄)	25	ml
CONTROL -	9450-06	Negativt kontrollserum (20 x), grönt lock	200	µl
CONTROL -/+	9450-07	Svag positivt serum (avskuren, 20 x), gult lock	200	µl
CONTROL +	9450-08	Positivt kontrollserum (20 x), rött lock	200	µl
CONJ	9450-09	Protein A - alkaliskt fosfatas konjugat (50 x), lila lock	300	µl
SUBS	9450-10	Fosfatas substrat (para-nitrofenylfosfat)	20	tabletter
		Multipipett reservoar, 25 ml	1	styck
		Ram för ELISA 8-brunnhållare	1	styck

Hållbarhetstid och lagring:

Förvara kiten mellan +2°C och +8°C (transport validerad mellan -20°C och +37°C i 21 dagar). Undvik långvarig exponering av komponenterna för direkt ljus. Utgångsdatumet och partinumret av kitet anges på sidan av lådan. Efter första öppningen är alla reagens stabila till och med utgångsdatumet när de lagras mellan +2°C och +8°C.

Utrustning som behövs men inte medföljer med kitet:

Pipetter (ml och µl). Kolvar. Rör för spädning av sera. Limtejp för att täcka över brunnarna under inkubationen. Destillerat vatten. Inkubator inställd på +37°C. ELISA läsare inställd på 405 Nm. Manuell eller automatisk utrustning för sköljning av brunnar. Vortex-blandare. Timer.

Preparationer av reagens innan användning:

Få alla reagens till rumstemperatur och blanda före användning.

ELISA brunnar: öppna sidan av aluminium väskan 9450-01 och ta bort antal brunnar som behövs (en för blank, tre för kontroller, plus antal prov). Placera sensibiliserade brunnar i 8-brunnars hållare. Om nödvändigt, slutför dem tomma positionerna i hållaren med använda brunnar. Sätt hållaren i ramen i rätt riktning. Återförsluta det öppna paketet med torkmedelsdyna.

Spädningsbuffert: utspädd spädningsbuffert (10 x) koncentrat 9450-02, 1/10 i destillerat vatten. Detta används för utspädning av kontroller, prover och konjugat. Den utspädda bufferten är stabil i 2 månader mellan +2°C och +8°C.

Tvättlösning: utspädd tvättlösning (10 x) koncentrat 9450-03, 1/10 i destillerat vatten. Använd också din egen tvättlösning. Undvik buffert som innehåller fosfat som kan hindra enzymatisk aktivitet av alkalisk fosfatas. Den utspädda tvättlösningen är stabil i 2 månader mellan +2°C och +8°C.

Kontrollsera: utspädd 10 µl kontrollsera 9450-06 till -08 i 190 µl spädningsbuffertlösning (slutlig utspädning 1/20). Det utspädda kontrollsera är stabilt i 2 månader mellan +2°C och +8°C.

Konjugat: utspädd konjugat 9450-09 i spädningsbuffertlösning (slutlig utspädning 1/50). Späd konjugat på dagen för analysen. Förvara inte utspätt konjugat.

Substratlösning: upplös tabletter av fosfatas substrat 9450-10 i utspädd buffert 9450-04 (1 tablett i 2,5 ml buffert). Skaka tills fullständig upplösning av tabletten/erna. Späd substratet på analysdagen och skydda röret från direkt ljus. Tabletter och substratlösningar borde vara färglösa, eller bara ha en ljusgul skiftning. Om en tablett eller en substratlösning blir gul kan den ha delvis hydrolyserats och bör kasseras. Förvara inte substratlösningen.

Stopplösning: använd reagens 9450-05 utspädd.

Provtagning och förberedning

Använd humant-serum. Serum bör förvaras mellan +2°C och +8°C om testet utförs inom 7 dagar, annars lagras vid -20°C eller lägre. Undvik upprepade frysning och upptining.

Vortexprover och späd 1/201 i spädningsbuffertlösning (t.ex. 5 µl prov i 1,0 ml). Förvara inte det utspädda provet.

Varningar och säkerhetsåtgärder:

Giftiga föreningar finns i följande koncentration:

Komponent	Referens	Natriumazid (N_3N_3)	Mertiolat
Spädningsbuffert (10 x)	9450-02	0,1%	0,02%
Tvättlösning (10 x)	9450-03	0,05%	/
Enzymlösning	9450-04	0,01%	/
Kontrollsera (20 x)	9450-06 till -08	0,1%	0,02%
Konjugat (50 x)	9450-09	0,1%	/

Vid de använda koncentrationerna har natriumazid och merthiolat ingen toxikologisk risk vid kontakt med hud och slemhinnor.

Komponent	Farlig komponent	Piktogram för fara	Faroangivelse	Försiktighetsåtgärd
Stopplösning	kaliumfosfat, trebasiskt		Orsakar allvarliga ögonskador	Använd ögonskydd. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.

- Dem negativa, svagt positiva, och positiva kontrollsera (9450-06 till -08) är av animaliskt ursprung (kaniner) och måste hanteras med försiktighet.
- Behandla alla reagens och prov som potentiellt infektiöst material.
- Byt inte reagenser av olika partier eller Bordier ELISA-kit.
- Använd inte reagenser från andra tillverkare med reagens i denna utrustning.
- Använd inte reagens efter dess utgångsdatum.
- Stäng reagensflaskorna tätt omedelbart efter användning, och byt inte ut skruvlock för att undvika förorening.
- Använd separata och rena pipetter-tips för varje prov.
- Återanvänd inte mikrobrunnar.
- Undvik försämring av mikrobrunnarna genom mekanisk verkan (spetsar/koner, munstycken).
- Beskrivningarna av symboler som används på etiketterna finns på webbplatsen www.bordier.ch.

Avfallshantering:

Alla material som används för detta test anses allmänt som farligt avfall. Se nationella och regionala lagar och förordningar för bortskaffande av farligt avfall.

Procedur:

Vid körning av analysen, undvik bildandet av bubblor i brunnarna.

Steg 1: Förinkubation:

Fyll brunnarna med 250 µl spädningsbuffertlösning.

Inkubera mellan 5 till 15 minuter vid omgivningstemperatur.

Ta bort spädningsbuffert genom aspiration eller genom att skaka remsorna över diskbänken.

Steg 2: Inkubation med prover:

Fyll den första brunn i remsan med 100 µl spädningsbuffert (inget serumblankt).

Fyll dem efterföljande tre brunnarna med respektive 100 µl utspädd negativ, svagt positiv (avskuren) och positiv kontrollsera. För analyser av mer än 25 prover rekommenderar vi att fylla de tre sista brunnarna med kontrollsera som ett duplikat.

Fyll dem återstående brunnarna med utspädda sera som skall testas (100 µl var och en).

Täck brunnarna med limtejp och inkubera i 30 minuter vid +37°C.

Ta bort sera och tvätta 4 x med ~ 250 µl tvättlösning.

Steg 3: Inkubation med konjugat:

Fördela 100 µl substratlösning per brunn (inklusive det inget serumblankt).

Täck brunnarna med limtejp och inkubera i 30 minuter vid +37°C.

Ta bort konjugat och tvätta 4 x med ~ 250 µl tvättlösning.

Steg 4: Inkubation med substrat:

Fördela 100 µl substratlösning per brunn.

Täck brunnarna med limtejp och inkubera i 30 minuter vid +37°C.

Stoppa reaktionen genom tillsats av 100 µl stopplösning i varje brunn.

Steg 5: Mätning av absorbanser:

Om det behövs, torka botten av brunnarna och eliminera bubblor. Mät absorbanserna vid 405 Nm inom 1 timme efter tillsatsen av stopplösning.

Förklaring:

Subtrahera värden av inget serumblankt från alla mätvärden. Beräkna de genomsnittliga absorbansvärdena för duplicerade serumkontroller när det är tillämpligt. Testet är giltigt om dem påföljande kriterierna uppfylls:

- absorbans (A) av positiv kontroll > 1,200
- A av svagt positiv kontroll > 18% av A av positiv kontroll
- A av negativ kontroll < 10% av A av positiv kontroll
- A av inget serumblankt < 0,350

Om provet ger en signal som överskrider mikroplattläsarens mätområde, bör värdet som motsvarar läsarens övre mätområde tillskrivas.

Kvalitetskontroll av nuvarande partier publiceras på vår hemsida: www.bordier.ch.

Antikroppskoncentrationen av den svagt positiva (avskuren) serum 9450-07 har ställts in för att optimalt skilja mellan sera från kliniskt dokumenterade fall av strongyloidiasis och friska humana sera.

Det skilda index av ett prov definieras efter subtraktion av det inget serumblankt ämne som:

$$\text{Index} = \frac{\text{Absorbans prov}}{\text{Absorbans avskilt serum}}$$

Resultatet är **negativ** när indexet av det analyserade provet är lägre än **1,0**. I detta fall, IgG antikroppskoncentrationen mot **Strongyloides ratti** antigener är kliniskt icke signifikant.

Resultatet är **positivt** när indexet av det analyserade provet är större än eller lika med **1,0**. I detta fall, IgG antikroppskoncentrationen mot **Strongyloides ratti** antigener är kliniskt icke signifikant. Det indikerar att patienten har haft kontakt med parasiten.

En gräzon kan definieras av varje laboratorium enligt patientpopulationen. Vid gränsöverskridande eller tvivelaktiga resultat rekommenderar vi att du upprepar testet igen 2-4 veckor senare med ett nytt prov.

Vid positivt eller tveksamt resultat rekommenderar vi att du utför ett bekräftelsetest (oftast med western blot) om ett sådant test är tillgängligt eller krävs enligt nationella bestämmelser.

Analytiska prestationer:

Analytisk specificitet:

En specificitet på 70% fann man i 89 sera från patienter med andra parasitinfektioner. Korsreaktivitet uppträder huvudsakligen hos patienter med schistosomiasis, filarioser, toxocariasis, fascioliasis och amöbiasis.

Ingen positiv eller negativ interferens sågs när sera tillsatts suprafysiologiska koncentrationer av hemoglobin, lipider eller bilirubin.

Noggrannhet:

Repetierbarhet bedömdes genom att testa 2 humana serumprover i 24 brunnar på en analys.

Reproducerbarhet bedömdes genom att testa 2 humana serumprover i duplikat på 10 olika analyser.

	Repetierbarhet		Reproducerbarhet	
	Prov 1	Prov 2	Prov 1	Prov 2
Genomsnitt (absorbans)	0,738	1,320	0,768	1,339
Standardavvikelse (absorbans)	0,040	0,040	0,053	0,073
Variationskoefficient (%)	5,5	3,0	6,9	5,4

Kliniska prestationer:

Diagnostisk känslighet:

En sensitivitet på 90% fann man i 59 sera från patienter med larver av *Strongyloides stercoralis*. Vid stark misstanke om strongyloidos bör andra tekniker användas (Baermann, fecesodling, flera avföringsundersökningar).

Diagnostisk specificitet:

En specificitet på 96% fann man i 150 sera från blodgivare (schweiziska).

Positivt och negativt prediktivt värde:

Man fann ett PPV på 90% och ett NPV på 96% i ovannämnda populationer.

Förväntade värden i normala och drabbade populationer:

I en normalpopulation bestående av 99 schweiziska blodgivare och i 98 sera från en schweizisk infektionsenhet är det förväntade indexvärdet 0,33. I en infekterad population med 7 sera från patienter med strongyloidos är det förväntade indexvärdet 1,41.

Incidenter:

Varje allvarlig incident som inträffar i samband med produkten ska anmälas till tillverkaren och till den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten är etablerad.

Begränsningar:

Diagnos av en infektionssjukdom bör inte upprättas på grundval av ett enda testresultat. En noggrann diagnos bör ta hänsyn till endemisk situation, klinisk historia, symptomatologi, bildbehandling och serologiska data. Hos immunförsvagade patienter och nyfödda är serologiska data av begränsat värde.

Referenser:

Bisoffi, Z., Buonfrate, D., Sequi, M., Mejia, R., Cimino, R.O., et al. (2014) Diagnostic Accuracy of Five Serologic Tests for *Strongyloides stercoralis* infection. PLoS Negl. Trop. Dis. 8.

Buonfrate, D., Sequi, M., Mejia, R., Cimino, R.O., Kroleiecki, A., Albonico, M., et al. (2015) Accuracy of Five Serologic Tests for the follow-up of *Strongyloides stercoralis* infection. PLoS Negl. Trop. Dis. 9.

Autier, B., Boukthir, S., Degeilh, B., Belaz, S., Dupuis, A., Chevrier, S., Gangneux, J. P. and Robert-Gangneux, F. (2021) Clinical value of serology for the diagnosis of strongyloidiasis in travelers and migrants: A 4-year retrospective study using the Bordier IVD *Strongyloides ratti* ELISA assay. Parasite 28, 79.

Tamarozzi, F., Guevara, A.G., Anselmi, M., Vicuña, Y., Prandi, R., Marquez, M., et al. (2023) Accuracy, acceptability, and feasibility of diagnostic tests for the screening of *Strongyloides stercoralis* in the field (ESTRELLA): a cross-sectional study in Ecuador. Lancet Glob Health 11 : 740-748.

Weitzel, T., Dittrich, S., Mockenhaupt, F.P. and Lindner, A.K. (2024) Serological diagnosis of strongyloidiasis: An evaluation of three commercial assays. PLoS Negl. Trop. Dis. 18.



BORDIER AFFINITY PRODUCTS S.A.

📍 Chemin de Chatanerie 2, 1023 Crissier, Switzerland.

☎ +41 21 633 31 67 ✉ cb@bordier.ch 🌐 www.bordier.ch

