

VetLine Borrelia IgM

ELISA

Only for veterinary in-vitro diagnostic use.

Enzyme immunoassay for the qualitative determination of IgM antibodies against Borrelia in veterinary serum.

Instructions for use / Gebrauchsanweisung / Instrucciones de uso

English	2
Deutsch	6
Español	10
Abbreviations / Abkürzungen / Abreviaciones	14
Packaging Materials / Verpackungsmaterialien / Materiales de embalaje	14
Symbols Key / Symbolschlüssel Legenda / Símbolos	15
Summary of Test Procedure / Kurzanleitung Testdurchführung / Resumen de la técnica	16

Product Number: BORVM0040 (96 Determinations)

ENGLISH

1. INTENDED USE

The VetLine Borrelia IgM ELISA is intended for the qualitative determination of IgM antibodies against Borrelia in canine serum.

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

The qualitative immunoenzymatic determination of specific antibodies is based on the ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) technique.

Microtiterplates are coated with specific antigens to bind corresponding antibodies of the sample. After washing the wells to remove all unbound sample material a horseradish peroxidase (HRP) labelled conjugate is added. This conjugate binds to the captured antibodies. In a second washing step unbound conjugate is removed. 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 specific antibodies in the sample. Sulphuric acid is added to stop the reaction. This produces a yellow endpoint colour. Absorbance at 450/620 nm is read using an ELISA Microtiterplate reader.

3. MATERIALS

3.1. Reagents supplied

- **Microtiterplate:** 12 break-apart 8-well snap-off strips coated with Borrelia antigens; in resealable aluminium foil.
- **Sample Dilution Buffer:** 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; ≤ 0.0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Stop Solution:** 1 bottle containing 15 mL sulphuric acid, 0.2 mol/L; ready to use; red cap.
- **Washing Buffer (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; 0.2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane.
- **Conjugate:** 1 bottle containing 20ml of peroxidase labelled antibody to IgM in phosphate buffer (10 mM); coloured red; ready to use; white cap.
- **TMB Substrate Solution:** 1 bottle containing 15 mL 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB), < 0.1 %; ready to use; yellow cap.
- **Positive Control:** 1 vial containing 2 mL; coloured yellow; ready to use; red cap; ≤ 0.02 % (v/v) MIT.
- **Cut-off Control:** 1 vial containing 3 mL; coloured yellow; ready to use; green cap; ≤ 0.02 % (v/v) MIT.
- **Negative Control:** 1 vial containing 2 mL; coloured yellow; ready to use; blue cap; ≤ 0.0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

For hazard and precautionary statements see 11.1

3.2. Materials supplied

- 1 Cover foil
- 1 Instructions for use (IFU)

3.3. Materials and Equipment needed

- ELISA Microtiterplate reader, equipped for the measurement of absorbance at 450/620 nm
- Incubator 37 °C
- Manual or automatic equipment for rinsing Microtiterplate wells
- Pipettes to deliver volumes between 10 and 1000 µL
- Vortex tube mixer
- Distilled water
- Disposable tubes

4. 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.

5. REAGENT PREPARATION

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

5.1. Microtiterplate

The break-apart snap-off strips are coated with Borrelia 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.

5.2. Washing Buffer (20x conc.)

Dilute Washing Buffer 1 + 19; e. g. 10 mL Washing Buffer + 190 mL distilled water. The diluted buffer is stable for 5 days at room temperature (20...25 °C). In case crystals appear in the concentrate, warm up the solution to 37 °C e.g. in a water bath. Mix well before dilution.

5.3. 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.

6. SAMPLE COLLECTION AND PREPARATION

Use canine serum samples with this assay. If the assay is performed within 5 days after sample collection, the samples 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.

6.1. Sample Dilution

Before assaying, all samples should be diluted 1+100 with Sample Dilution Buffer. Dispense 10 µL sample and 1 mL Sample Dilution Buffer into tubes to obtain a 1+100 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

7. ASSAY PROCEDURE

Please read the instructions for use carefully **before** performing the assay. Result reliability depends on strict adherence to the instructions for use as described. The following test procedure is only validated for manual procedure. If performing the test on ELISA automatic systems we recommend increasing the washing steps from three up to five and the volume of Washing Buffer from 300 µL to 350 µL to avoid washing effects. Pay attention to chapter 11. Prior to commencing the assay, the distribution and identification plan for all samples and standards/controls (duplicates recommended) should be carefully established. Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

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

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 Buffer. Avoid overflows from the reaction wells. The interval between washing and aspiration 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 important! Insufficient washing results in poor precision and false results.
5. Dispense 100 µL Conjugate into all wells except for the Substrate Blank well A1.
6. **Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C).** 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.** A blue colour occurs due to an enzymatic reaction.
10. Dispense 100 µL Stop Solution into all wells in the same order and at the same rate as for the TMB Substrate Solution, thereby a colour change from blue to yellow occurs.
11. Measure the absorbance at 450/620 nm within 30 min after addition of the Stop Solution.

7.1. Measurement

Adjust the ELISA Microtiterplate reader **to zero** using the **Substrate Blank**.

If - due to technical reasons - the ELISA Microtiterplate reader cannot be adjusted to zero using the Substrate Blank, subtract its absorbance value 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 sample.

Bichromatic measurement using a reference wavelength of 620 nm is recommended.

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

8. RESULTS

8.1. Run Validation Criteria

In order for an assay to be considered valid, these instructions for use have to be strictly followed and the following criteria must be met:

- **Substrate Blank:** Absorbance value < **0.100**
- **Negative Control:** Absorbance value < **0.200** and < **Cut-off**
- **Cut-off Control:** Absorbance value **0.150 – 1.300**
- **Positive Control:** Absorbance value > **Cut-off**

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

8.2. 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

8.2.1. Results in Units [NTU]

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

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

8.3. Interpretation of Results

Cut-off	10 NTU
Positive	> 11 NTU
Equivocal	9 – 11 NTU
Negative	< 9 NTU

9. SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

For further information about the specific performance characteristics please contact Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH.

9.1. Precision

9.2. Diagnostic Specificity

9.3. Diagnostic Sensitivity

9.4. Interferences

Interferences with hemolytic, lipemic or icteric samples are not observed up to a concentration of 10 mg/mL hemoglobin, 5 mg/mL triglycerides and 0.5 mg/mL bilirubin.

9.5. Cross Reactivity

Cross reactions cannot be excluded.

10. LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

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

11. PRECAUTIONS AND WARNINGS

- 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 samples.
- Only for veterinary in-vitro diagnostic use.
- All materials of human or animal origin 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 into the wells.
- The ELISA is only designed for qualified personnel who are familiar with good laboratory practice.
- For further internal quality control each laboratory should additionally use known samples.

11.1. Safety note for reagents containing hazardous substances

Reagents may contain CMIT/MIT (3:1) or MIT (refer to 3.1).
Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

Warning



H317	May cause an allergic skin reaction.
P261	Avoid breathing spray.
P280	Wear protective gloves/ protective clothing.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P333+P313	If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/ attention.
P362+P364	Take off contaminated clothing and Wash it before reuse.

Reagents may contain 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane (refer to 3.1)
Therefore, the following hazard and precautionary statements apply.

Warning



H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.
P280	Wear protective gloves/ protective clothing.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

Further information can be found in the safety data sheet.

11.2. 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.

For information about the packaging materials refer to PACKAGING MATERIALS.

12. ORDERING INFORMATION

Prod. No.: BORVM0040 VetLine Borrelia IgM ELISA (96 Determinations)

DEUTSCH

1. VERWENDUNGSZWECK

Der VetLine Borrelia IgM ELISA ist für den qualitativen Nachweis spezifischer IgM Antikörper gegen Borrelia in canine Serumproben bestimmt.

2. TESTPRINZIP

Die qualitative immunoenzymatische Bestimmung von spezifischen Antikörpern beruht auf der ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) Technik.

Die Mikrotiterplatten sind mit spezifischen Antigenen beschichtet, an welche die korrespondierenden Antikörper aus der Probe binden. Ungebundenes Probenmaterial wird durch Waschen entfernt. Anschließend erfolgt die Zugabe eines Meerettich-Peroxidase (HRP) Konjugates. Dieses Konjugat bindet an die an der Mikrotiterplatte gebundenen spezifischen Antikörper. In einem zweiten Waschschrift wird ungebundenes Konjugat entfernt. Die Immunkomplexe, die durch die Bindung des Konjugates entstanden sind, werden durch die Zugabe von Tetramethylbenzidin (TMB)-Substratlösung und eine resultierende Blaufärbung nachgewiesen.

Die Intensität des Reaktionsproduktes ist proportional zur Menge der spezifischen Antikörper in der Probe. Die Reaktion wird mit Schwefelsäure gestoppt, wodurch ein Farbumschlag von blau nach gelb erfolgt. Die Absorption wird bei 450/620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen.

3. MATERIALIEN

3.1. Mitgelieferte Reagenzien

- **Mikrotiterplatte:** 12 teilbare 8er-Streifen, beschichtet mit Borrelia 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; ≤ 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Stopplösung:** 1 Flasche mit 15 mL Schwefelsäure, 0,2 mol/L; gebrauchsfertig; rote Verschlusskappe.
- **Waschpuffer (20x konz.):** 1 Flasche mit 50 mL eines 20-fach konzentrierten Phosphatpuffers (0,2 M), zum Waschen der Kavitäten; pH 7,2 ± 0,2; weiße Verschlusskappe; 0,2% (w/v) 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan.
- **Konjugat:** 1 Flasche mit 20 ml Peroxidase-konjugierten Antikörpern gegen IgM in Phosphatpuffer (10 mM); rot gefärbt; gebrauchsfertig; weiße Verschlusskappe.
- **TMB-Substratlösung:** 1 Flasche mit 15 mL 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB), < 0,1 %; gebrauchsfertig; gelbe Verschlusskappe.
- **Positivkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 mL; gelb gefärbt; rote Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **Cut-off Kontrolle:** 1 Fläschchen mit 3 mL; gelb gefärbt; grüne Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **Negativkontrolle:** 1 Fläschchen mit 2 mL; gelb gefärbt; blaue Verschlusskappe; gebrauchsfertig; ≤ 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Für Gefahren- und Sicherheitshinweise siehe 11.1.

3.2. Mitgeliefertes Zubehör

- 1 selbstklebende Abdeckfolie
- 1 Gebrauchsanweisung

3.3. Erforderliche Materialien und Geräte

- Mikrotiterplatten-Photometer mit Filtern 450/620 nm
- Inkubator 37°C
- Manuelle oder automatische Waschvorrichtung
- Mikropipetten (10 - 1000 µL)
- Vortex-Mischer
- Destilliertes Wasser
- Plastikröhrchen für den einmaligen Gebrauch

4. 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.

5. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Es ist sehr wichtig, alle Reagenzien und Proben vor ihrer Verwendung auf Raumtemperatur (20...25 °C) zu bringen und zu mischen!

5.1. Mikrotiterplatte

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

5.2. Waschpuffer (20x konz.)

Der Waschpuffer ist im Verhältnis 1 + 19 zu verdünnen; z.B. 10 mL Waschpuffer + 190 mL destilliertes Wasser. Der verdünnte Puffer ist bei Raumtemperatur (20...25 °C) 5 Tage haltbar. Sollten Kristalle im Konzentrat auftreten, die Lösung z.B. in einem Wasserbad auf 37 °C erwärmen und vor dem Verdünnen gut mischen.

5.3. TMB-Substratlösung

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

6. ENTNAHME UND VORBEREITUNG DER PROBEN

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

6.1. 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).

7. TESTDURCHFÜHRUNG

Gebrauchsanweisung **vor** Durchführung des Tests sorgfältig lesen. Für die Zuverlässigkeit der Ergebnisse ist es notwendig, die Gebrauchsanweisung 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 bis zu fünf und das Volumen des Waschpuffers von 300 µL auf 350 µL zu erhöhen. Kapitel 11 beachten. Vor Testbeginn die Verteilung bzw. Position der Proben und der Standards/Kontrollen (Doppelbestimmung empfohlen) genau festlegen. Die benötigte Anzahl von Mikrotiterstreifen (Kavitäten) in den Streifenhalter einsetzen.

Den Test in der angegebenen Reihenfolge und ohne Verzögerung durchführen.

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

Den Inkubator 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 Waschpuffer waschen. Überfließen von Flüssigkeit aus den Vertiefungen vermeiden. Das Intervall zwischen Waschen und Absaugen sollte > 5 sec betragen. Nach dem Waschen die Teststreifen auf Fließpapier ausklopfen, um die restliche Flüssigkeit zu entfernen.
Beachte: Der Waschvorgang ist wichtig, da unzureichendes Waschen zu schlechter Präzision und falschen Messergebnissen führt!
5. 100 µL Konjugat in alle Vertiefungen, mit Ausnahme der für die Berechnung des Leerwertes A1 vorgesehenen, pipettieren.
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.** Bei enzymatischer Reaktion findet eine Blaufärbung statt.
10. In alle Vertiefungen 100 µL Stopplösung in der gleichen Reihenfolge und mit den gleichen Zeitintervallen wie bei Zugabe der TMB-Substratlösung pipettieren, dadurch erfolgt ein Farbwechsel von blau nach gelb.
11. Die Extinktion der Lösung in jeder Vertiefung bei 450/620 nm innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung messen.

7.1. Messung

Mit Hilfe des Substratleerwertes den **Nullabgleich** des Mikrotiterplatten-Photometers vornehmen.

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

Extinktion aller Kavitäten bei **450 nm** messen und die Messwerte der Standards/Kontrollen und Proben notieren.

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

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

8. BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

8.1. Testgültigkeitskriterien

Damit ein Testlauf als valide betrachtet werden kann, muss diese Gebrauchsanweisung strikt befolgt werden, und die folgenden Kriterien müssen erfüllt sein:

- **Substrat-Leerwert:** Extinktionswert < **0,100**
- **Negativkontrolle:** Extinktionswert < **0,200** und < **Cut-off**
- **Cut-off Kontrolle:** Extinktionswert **0,150 – 1,300**
- **Positivkontrolle:** Extinktionswert > **Cut-off**

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

8.2. Messwertberechnung

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

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

Cut-off = 0,43

8.2.1. Ergebnisse in Einheiten [NTU]

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

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

8.3. Interpretation der Ergebnisse

Cut-off	10 NTU
Positiv	> 11 NTU
Grenzwertig	9 – 11 NTU
Negativ	< 9 NTU

9. TESTMERKMALE

Für weitere Informationen zu den spezifischen Leistungsmerkmalen, wenden Sie sich bitte an Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH.

9.1. Präzision

9.2. Diagnostische Spezifität

9.3. Diagnostische Sensitivität

9.4. Interferenzen

9.5. Kreuzreaktivität

Kreuzreaktionen können nicht ausgeschlossen werden.

10. GRENZEN DES VERFAHRENS

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

11. SICHERHEITSMASSNAHMEN UND WARNHINWEISE

- Die Testdurchführung, die Information, die Sicherheitsmaßnahmen und Warnhinweise in der Gebrauchsanweisung sind 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 veterinärmedizinische in-vitro-Diagnostik.
- Alle Materialien menschlichen oder tierischen Ursprungs 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, um Kreuzkontaminationen zu vermeiden.
- 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.
- Zur weiteren internen Qualitätskontrolle sollte jedes Labor zusätzlich bekannte Proben verwenden.

11.1. Sicherheitshinweis für Reagenzien, die Gefahrstoffe enthalten

Die Reagenzien können CMIT/MIT (3:1) oder MIT enthalten (siehe 3.1)
Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

Achtung



H317	Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
P261	Einatmen von Aerosol vermeiden.
P280	Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.
P333+P313	Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364	Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

Die Reagenzien können 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan enthalten (siehe 3.1)
Daher gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

Achtung



H315	Verursacht Hautreizungen.
H319	Verursacht schwere Augenreizung.
P280	Schutzhandschuhe/ Schutzkleidung tragen.
P302+P352	BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Seife und Wasser waschen.
P305+P351+P338	BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell Vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
P337+P313	Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.

Weitere Informationen können dem Sicherheitsdatenblatt entnommen werden.

11.2. Entsorgungshinweise

Rückstände von Chemikalien und Zubereitungen werden im Allgemeinen als gefährliche Abfälle betrachtet. Die Entsorgung dieser Art von Abfällen wird durch nationale und regionale Gesetze und Vorschriften geregelt. Wenden Sie sich an Ihre örtlichen Behörden oder an Abfallentsorgungsunternehmen, die Sie über die Entsorgung von Sondermüll beraten.

Informationen zu den Verpackungsmaterialien finden Sie unter VERPACKUNGSMATERIALIEN.

12. BESTELLINFORMATIONEN

Produktnummer: BORVM0040 VetLine Borrelia IgM ELISA (96 Bestimmungen)

ESPAÑOL

1. USO PREVISTO

El enzoinmunoensayo de VetLine Borrelia IgM ELISA se utiliza para la determinación cualitativa de IgM anticuerpos contra Borrelia en suero de canino.

2. PRINCIPIO DEL ENSAYO

La determinación inmunoenzimática cualitativa de anticuerpos específicos se basa en la técnica ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay).

Las Placas de Microtitulación están recubiertas con antígenos específicos unen a los anticuerpos de la muestra. Después de lavar los pocillos para eliminar todo el material de muestra no unido, el conjugado de peroxidasa de rábano (HRP) se añade. Este conjugado se une a los anticuerpos capturados. En una segunda etapa de lavado se retira el conjugado no unido. El complejo inmune formado por el conjugado unido se visualizó añadiendo sustrato tetrametilbencidina (TMB), que da un producto de reacción azul.

La intensidad de este producto es proporcional a la cantidad de anticuerpos específicos en la muestra. se añade ácido sulfúrico para detener la reacción. Esto produce un cambio de color de azul a amarillo. La extinción a 450/620 nm se mide con un fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA.

3. MATERIALES

3.1. Reactivos suministrados

- **Placa de Microtitulación:** 12 tiras de 8 pocillos rompibles, recubiertos con antígenos de Borrelia, en bolsa de aluminio.
- **Tampón de Dilución de Muestras:** 1 botella de 100 mL de solución de tampón de fosfato (10 mM) para diluir la muestra; pH 7,2 ± 0,2; color amarillo; listo para ser utilizado; tapa blanca; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solución de Parada:** 1 botella de 15 mL de ácido sulfúrico, 0,2 mol/L, listo para ser utilizado; tapa roja.
- **Tampón de Lavado (20x conc.):** 1 botella de 50 mL de una solución de tampón de fosfato 20x concentrado (0,2 M) para lavar los pocillos; pH 7,2 ± 0,2; tapa blanca; 0,2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano.
- **Conjugado:** 1 botella de 20 ml de conjugado de anticuerpos IgM con peroxidasa en tampón de fosfato (10 mM); color rojo; tapa blanca; listo para ser utilizado.
- **Solución de Sustrato de TMB:** 1 botella de 15 mL 3,3',5,5'-tetrametilbenzindina (TMB), < 0,1 %; listo para ser utilizado; tapa amarilla.
- **Control Positivo:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa roja; listo para ser utilizado; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Control Cut-off:** 1 botella de 3 mL control; color amarillo; tapa verde; listo para ser utilizado; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Control Negativo:** 1 botella de 2 mL control; color amarillo; tapa azul; listo para ser utilizado; ≤ 0,0015 % (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Para indicaciones de peligro y consejos de prudencia consulte el cap. 11.1.

3.2. Accesorios suministrados

- 1 lámina autoadhesiva
- 1 instrucciones de uso

3.3. Materiales e instrumentos necesarios

- Fotómetro de Placa de Microtitulación con filtros de 450/620 nm
- Incubadora 37 °C
- Dispositivo de lavado manual o automático para Placa de Microtitulación
- Micropipetas para uso de (10-1000 µL)
- Mezcladora Vortex
- Agua destilada
- Tubos de plástico desechables

4. ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Almacene el kit a 2...8 °C. Los reactivos abiertos son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta cuando se almacena a 2...8 °C.

5. PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

¡Es muy importante llevar todos los reactivos y las muestras para a la temperatura ambiente (20...25 °C) y mezclarlos antes de ser utilizados!

5.1. Placa de Microtitulación

As tiras rompibles están recubiertas con antígenos del Borrelia; Inmediatamente después de la eliminación de las tiras, las tiras restantes deben sellarse de nuevo en el papel de aluminio junto con la bolsita di dióxido de silicio y almacenar a 2...8 °C.

5.2. Tampón de Lavado (20x conc.)

Diluir la Tampón de Lavado 1+19; por ejemplo 10 mL de la Tampón de Lavado + 190 mL de agua destilada. La Tampón de Lavado diluido es estable durante 5 días a temperatura ambiente o a 2...8 °C. Caso aparecen cristales en el concentrado, calentar la solución a 37 °C, por ejemplo, en un baño María. Mezclar bien antes de la dilución.

5.3. Solución de Sustrato de TMB

La solución está listo para su uso y debe almacenarse a 2...8 °C, protegida de la luz. La solución debe ser incolora o podría tener un color ligeramente azul claro. Si el sustrato se convierte en azul, es posible que haya sido contaminado y no puede ser utilizada en el ensayo.

6. TOMA Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Usar muestras de suero canino con este ensayo. Si el ensayo se realiza dentro de 5 días después de la toma de sangre, las muestras pueden ser almacenadas de 2...8 °C, en caso contrario deben ser alicotadas y almacenadas congeladas (-70...-20 °C). Agitar bien las muestras descongeladas antes de diluirlas. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. No se recomienda la inactivación por calor de las muestras.

6.1. Dilución de las Muestras

Antes del ensayo, las muestras tienen que estar diluidas en relación 1 + 100 con el Tampón de Dilución de Muestras, por ejemplo 10 µL de la muestra con 1 mL de Tampón de Dilución de Muestras, mezclar bien con la mezcladora Vortex.

7. PROCEDIMIENTO

Por favor, leer cuidadosamente las instrucciones de uso del ensayo **antes** de realizarlo. Para el buen funcionamiento de la técnica es necesario seguir las instrucciones. El siguiente procedimiento es válido solamente para el método manual. Si se realiza el ensayo en los sistemas automáticos de ELISA es aconsejable elevar el número de lavado de tres hasta cinco veces y el volumen de Tampón de Lavado de 300 µL a 350 µL para excluir efectos de lavado. Preste atención al capítulo 11. Antes de comenzar, especificar exactamente la repartición y posición de las muestras y de los estándares/controles (recomienda determinar en doble). Usar la cantidad necesaria de tiras o pozos e insertarlos en el soporte.

Realizar el ensayo en el orden indicado y sin retraso.

Para cada paso de pipeteado en los estándares/controles y en las muestras, usar siempre puntas de pipeta de un solo uso.

Graduar la incubadora a 37 ± 1°C.

1. Pipetear 100 µL de estándares/controles y muestras en los pocillos respectivos. Dejar el pocillo A1 para el blanco.
2. Recubrir las tiras con los autoadhesivos suministrados.
3. **Incubar 1 h ± 5 min a 37 ± 1°C.**
4. Después de la incubación, retirar el autoadhesivo, aspirar el líquido de la tira y lavarla tres veces con 300 µL de la Tampón de Lavado. Evitar el rebosamiento de los pocillos. El intervalo entre lavado y aspiración debe ser > 5 segundos. Para sacar el líquido restante de las tiras, es conveniente sacudirlas sobre papel absorbente.
Nota: ¡El lavado es muy importante! ¡Un mal lavado insuficiente provoca una baja precisión y resultados falsamente elevados!
5. Pipetar 100 µL de Conjugado en cada pocillo con excepción del blanco sustrato A1.
6. **Incubar 30 min a la temperatura ambiente (20...25 °C).** Evitar la luz solar directa.
7. Repetir el lavado como en el paso número 4.
8. Pipetar 100 µL de la Solución de Sustrato de TMB en todos los pocillos.
9. **Incubar exactamente 15 min en oscuridad a temperatura ambiente (20...25 °C).** Un color azul se produce en las muestras positivas debido a la reacción enzimática.
10. Pipetear en todos los pocillos 100 µL de la Solución de Parada en el mismo orden y mismo intervalo de tiempo como con la Solución de Sustrato de TMB, por lo tanto un cambio de color de azul a amarillo se produce.
11. Medir la extinción con 450/6lavado20 nm en un periodo de 30 min después de añadir la Solución de Parada.

7.1. Medición

Ajustar el fotómetro de Placa de Microtitulación ELISA **al cero** utilizando **el Blanco**.

¡Si por razones técnicas el fotómetro de Placa de Microtitulación de ELISA no se puede ajustar a cero utilizando el Blanco, el valor de la absorbancia de esto debe ser sustraído de los demás valores de absorbancia medidos con el fin de obtener resultados fiables!

Medir la **extinción** de todos los pocillos con **450 nm** y anotar los resultados de los estándares/controles y de las muestras.

Es aconsejable realizar la medición **bicromática** a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

Si se efectuaron análisis en duplicado o múltiples, hay que calcular **el promedio de los valores de extinción** de los pocillos correspondientes.

8. CALCULO DE LOS RESULTADOS

8.1. Criterios de validez del ensayo

Para que un ensayo se considere válido, deben seguirse estrictamente las presentes instrucciones de uso y deben cumplirse los siguientes criterios:

- **Blanco:** valor de la extinción < **0,100**
- **Control negativo:** valor de la extinción < **0,200 y < Cut-off**
- **Control cut-off:** valor de la extinción **0,150 – 1,300**
- **Control positivo:** valor de la extinción > **Cut-off**

Si estos criterios no se cumplen, la prueba no es válida y deberá repetirse.

8.2. Calculo del valor de la medición

El Cut-off se obtiene de los valores de la extinción de los dos Controles Cut-off.

Ejemplo: 0,42 OD Control Cut-off + 0,44 OD Control Cut-off = 0,86:2 = 0,43

Cut-off = 0,43

8.2.1. Resultados en unidades [NTU]

$$\frac{\text{Promedio valor de la extinción de la muestra} \times 10}{\text{Cut-off}} = [\text{NovaTec-unidades} = \text{NTU}]$$

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

8.3. Interpretación de los resultados

Cut-off	10 NTU
Positivo	> 11 NTU
Zona intermedia	9 – 11 NTU
Negativo	< 9 NTU

9. CARACTERÍSTICAS DEL ENSAYO

Para obtener más información sobre características de rendimiento específicas, comuníquese con Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH.

9.1. Precisión

9.2. Especificad Diagnóstica

9.3. Sensibilidad de Diagnóstico

9.4. Interferencias

9.5. Reacción cruzada

Las reacciones cruzadas no pueden ser excluidas.

10. LIMITACIONES DEL ENSAYO

Una contaminación de las muestras con bacterias, o una congelación y descongelación repetida pueden producir cambios en los valores de la extinción.

11. PRECAUCIONES Y ADVERTENCIAS

- El procedimiento, la información, las precauciones y los avisos de las instrucciones de uso han de ser seguidas estrictamente. La utilización de equipos con analizadores y equipamiento similar tiene que ser validada. No se autorizan cambios en el diseño, composición y procedimiento, así como cualquier utilización en combinación con otros productos no aprobados por el fabricante; el usuario debe hacerse responsable de estos cambios. El fabricante no responderá ante falsos resultados e incidentes debidos a estas razones. El fabricante no responderá ante cualquier resultado por análisis visual de las muestras de los pacientes.
- Solo para diagnósticos veterinarios in vitro.
- Todos los materiales de origen humano o animal deberán ser considerados y tratados como potencialmente infecciosos.
- Todos los componentes de origen humano han sido examinados y resultaron no reactivos a anticuerpos contra el VIH, VHC y HbsAG.
- No intercambiar reactivos y placas de microtítulo de cargas diferentes.
- No usar reactivos de otro fabricante para este ensayo.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Sólo usar recambios de pipetas, dispensadores y materiales de laboratorio limpios.
- No intercambiar las tapas de los diferentes reactivos, para evitar la contaminación cruzada.
- Para evitar la evaporación y una contaminación microbiana, cierre inmediatamente las botellas después de usarlas.
- Después de abrirlas y posterior almacenaje, asegurarse de que no existe contaminación microbiana antes de seguir usándolas.
- Para evitar contaminaciones cruzadas y resultados erróneamente aumentados, pipetear cuidadosamente las muestras y los reactivos en los pocillos sin salpicar.
- El ELISA está pensado exclusivamente para su uso por personal especializado que domine perfectamente las técnicas de trabajo.
- Para un mayor control de calidad interno, cada laboratorio deberá utilizar además muestras conocidas.

11.1. Nota de seguridad para los reactivos que contienen sustancias peligrosas

Los reactivos pueden contener CMIT/MIT (3:1) o MIT (consulte el cap. 3.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

Atención



H317	Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
P261	Evitar respirar el aerosol.
P280	Llevar guantes/ prendas de protección.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.
P333+P313	En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364	Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.

Los reactivos pueden contener 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxano (consulte el cap. 3.1)

Por lo tanto, se aplican las indicaciones de peligro y consejos de prudencia.

Atención



H315	Provoca irritación cutánea.
H319	Provoca irritación ocular grave.
P280	Llevar guantes/ prendas de protección.
P302+P352	EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con abundante jabón agua.
P305+P351+P338	EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
P337+P313	Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

Se puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad.

11.2. Indicaciones para la eliminación de residuos

Los residuos de productos químicos y preparados se consideran generalmente como residuos peligrosos. La eliminación de este tipo de residuos está regulada por leyes y reglamentos nacionales y regionales. Póngase en contacto con las autoridades locales o con las empresas de gestión de residuos, que le asesorarán sobre cómo eliminar los residuos peligrosos.

Para obtener información sobre los materiales de embalaje, consulte MATERIALES DE EMBALAJE.


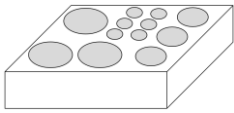





12. INFORMACIONES PARA PEDIDOS

Nº del producto: BORVM0040 VetLine Borrelia IgM ELISA (96 determinaciones)






ABBREVIATIONS / ABKÜRZUNGEN / ABREVIACIONES

CMIT	5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one
MIT	2-methyl-2H-isothiazol-3-one

PACKAGING MATERIALS / VERPACKUNGSMATERIALIEN / MATERIALES DE EMBALAJE

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22	 PAP 22																	
<table border="1"> <tr> <td>SOLN</td> <td>STOP</td> <td>WASH</td> <td>BUF</td> <td>20x</td> <td>SUB</td> <td>TMB</td> <td>DIL</td> </tr> <tr> <td>CONJ</td> <td>CONTROL +</td> <td>CONTROL -</td> <td colspan="5">CUT OFF</td> </tr> </table>			SOLN	STOP	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL	CONJ	CONTROL +	CONTROL -	CUT OFF					<table border="1"><tr><td>MTP</td></tr></table>	MTP
SOLN	STOP	WASH	BUF	20x	SUB	TMB	DIL													
CONJ	CONTROL +	CONTROL -	CUT OFF																	
MTP																				
 HDPE 2	 PP 5		 PET / ALU / LDPE 90																	

SYMBOLS KEY / SYMBOLSCHLÜSSEL LEGENDA / SIMBOLOS

	Manufactured by / Hergestellt von / Fabricado por
LOT	Lot Number / Chargenbezeichnung / Número de lote
	Expiration Date / Verfallsdatum / Fecha de caducidad
	Storage Temperature / Lagertemperatur / Temperatura de almacenamiento
REF	Catalogue Number / Katalog Nummer / Número de Catálogo
	Consult Instructions for Use / Gebrauchsanweisung beachten / Consulte las Instrucciones de Uso
MTP	Microtiterplate / Mikrotiterplatte / Placa de Microtitulación
CONJ	Conjugate / Konjugat / Conjugado
CONTROL -	Negative Control / Negativkontrolle / Control Negativo
CONTROL +	Positive Control / Positivkontrolle / Control Positivo
CUT OFF	Cut-off Control / Cut-off Kontrolle / Control Cut-off
DIL	Sample Dilution Buffer / Probenverdünnungspuffer / Tampón de Dilución de Muestras
SOLN STOP	Stop Solution / Stopplösung / Solución de Parada
SUB TMB	TMB Substrate Solution / TMB-Substratlösung / Solución de Sustrato de TMB
WASH BUF 20x	“Washing Buffer (20x concentrated)”; REF W0000 Washing Buffer 20x concentrated / Waschpuffer 20x konzentriert / Tampón de Lavado concentrado 20x
	Contains sufficient for “n” tests / Ausreichend für “n” Tests / Contenido suficiente para “n” tests

SCHEME OF THE ASSAY

VetLine Borrelia IgM ELISA

Test Preparation

Prepare reagents and samples as described.
 Establish the distribution and identification plan for all samples and standards/controls.
 Select the required number of microtiter strips or wells and insert them into the holder.

Assay Procedure

	Substrate Blank (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 Incubate for 1 h at 37±1 °C Wash each well three times with 300 µL of Washing Buffer					
Conjugate	-	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for 30 min at room temperature (20...25 °C) Do not expose to direct sunlight Wash each well three times with 300 µL of Washing Buffer					
TMB Substrate Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Incubate for exactly 15 min at room temperature (20...25 °C) in the dark					
Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL	100 µL
Photometric measurement at 450 nm (reference wavelength: 620 nm)					



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6

63128 Dietzenbach, Germany

Tel.: +49 6074 23698-0

Fax: +49 6074 23698-900

E-Mail: Info.Frankfurt@eu.goldstandarddiagnostics.com

Website: clinical.goldstandarddiagnostics.com

BORVM0040 engl,dt,es 20240429-DH