



VetLine *Dirofilaria* Antigen

ELISA

Only for veterinary in-vitro diagnostic use.

Enzyme immunoassay for the qualitative determination of canine heartworm antigens in veterinary serum.

Instructions for use

English	2
Français	6
Abbreviations / Abréviations	10
Packaging Materials / Matériels d'emballage	10
Symbols Key / Explication des Symboles.....	11
Summary of Test Procedure / Résumé de la procédure de test	12

Product Number: DIRVT4760 (96 Determinations)

ENGLISH

1. INTENDED USE

The VetLine Dirofilaria Antigen ELISA is intended for the qualitative determination of canine heartworm antigens in veterinary serum.

2. PRINCIPLE OF THE ASSAY

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

Microtiterplates are coated with specific antibodies to bind corresponding antigens of the sample. After washing the wells to remove all unbound sample material a horseradish peroxidase (HRP) labelled antibody conjugate is added. This conjugate binds to the captured antigens. 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 antigens 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 breakapart 8-well snap-off strips coated with anti-Dirofilaria antibodies; 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 15 mL of peroxidase labelled anti-Dirofilaria antibodies; coloured red, ready to use; white cap; ≤ 0.02 % (v/v) MIT.
- **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 control; coloured yellow; ready to use; red cap; ≤ 0.02 % (v/v) MIT.
- **Cut-off Control:** 1 vial containing 3 mL control; coloured yellow; ready to use; green cap; ≤ 0.02 % (v/v) MIT.
- **Negative Control:** 1 vial containing 2 mL control; 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
- Heating block
- Centrifuge

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 anti-Dirofilaria antibodies. 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 veterinary 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 and Heat Incubation

Before assaying, all samples should be diluted 1+1 with Sample Dilution Buffer. Dispense 250 µL sample and 250 µL Sample Dilution Buffer into tubes to obtain a 1+1 dilution and thoroughly mix with a Vortex.

In case of a suspected false negative result the sample should be treated with heat incubation to inactivate intrinsic antibodies. Example protocol: The diluted sample (at least 500 µL) should be incubated for 10 minutes at 104 °C on a heating block. Then centrifuge the sample at 16.000 x g for 5 minutes. The supernatant can be used as sample material for further testing.

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 < **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.
- 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 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 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.: DIRVT4760 VetLine Dirofilaria Antigen ELISA (96 Determinations)

FRANÇAIS

1. INDICATION D'UTILISATION

Le VetLine Dirofilaria Antigen ELISA est destiné à la détermination qualitative des antigènes du ver du cœur canin dans le sérum vétérinaire.

2. PRINCIPE DU TEST

La détermination immunoenzymatique qualitative des antigènes spécifiques est basée sur la technique ELISA (du anglais, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay).

Plaques de Microtitrage sont recouvertes d'anticorps spécifiques pour lier les antigènes correspondants de l'échantillon. Après le lavage des puits pour éliminer tout le matériel non lié de l'échantillon, un conjugué d'anticorps marqué à la peroxydase de raifort (HRP) est ajouté. Ce conjugué se lie aux antigènes capturés. Dans une deuxième étape de lavage, le conjugué non lié est éliminé. Le complexe immun formé par le conjugué lié est visualisé par l'addition tétraméthylbenzidine (TMB) qui donne un produit de réaction bleu.

L'intensité de ce produit est proportionnelle à la quantité d'antigènes spécifiques dans l'échantillon. L'acide sulfurique est ajouté pour arrêter la réaction. Cela produit un changement du bleu au jaune. L'absorbance à 450/620 nm est lue en utilisant un Photomètre de Plaque de Microtitrage ELISA.

3. MATERIEL

3.1. Réactifs fournis

- **Plaque de Microtitrage:** 12 barrettes de 8 puits sécables revêtus avec anticorps anti-Dirofilaria; en sachets d'aluminium refermables.
- **Tampon de Dilution d'Échantillon:** 1 flacon contenant 100 mL de tampon phosphaté (10 mM) pour la dilution de l'échantillon; pH 7,2 ± 0,2; prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon blanc; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/MIT (3:1).
- **Solution d'Arrêt:** 1 flacon contenant 15 mL d'acide sulfurique, 0,2 mol/L; prêt à l'emploi; bouchon rouge.
- **Tampon de Lavage (concentré x 20):** 1 flacon contenant 50 mL d'un tampon phosphaté (0,2 M) concentré 20 fois (pH 7,2 ± 0,2) pour laver les puits; bouchon blanc ; 0,2% (w/v) 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane
- **Conjugué:** 1 flacon contenant 15 mL de peroxydase conjuguées avec anticorps anti-Dirofilaria; couleur rouge; prêt à l'emploi; bouchon blanc ; ≤ 0,02 % (v/v) MIT.
- **Solution de Substrat TMB:** 1 flacon contenant 15 mL de 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB), < 0,1 %; prêt à l'emploi; bouchon jaune.
- **Contrôle Positif:** 1 flacon contenant 2 mL contrôle; prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon rouge; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Contrôle Cut-off:** 1 flacon contenant 3 mL contrôle; prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon vert; ≤ 0,02% (v/v) MIT.
- **Contrôle Négatif:** 1 flacon contenant 2 mL contrôle; prêt à l'emploi; couleur jaune; bouchon bleu; ≤ 0,0015% (v/v) CMIT/MIT (3:1).

Pour les mentions de danger et les conseils de prudence voir chapitre 11.1

3.2. Matériel fourni

- 1 couvercle autocollante
- 1 notice d'utilisation

3.3. Matériel et équipement requis

- Photomètre de Plaque de Microtitrage ELISA, pour mesurer l'absorbance à 450/620 nm
- Incubateur 37 °C
- Laveur manuel ou automatique pour le lavage des Plaques de Microtitrage
- Pipettes pour utilisation entre 10 et 1000 µL
- Mélangeur Vortex
- Eau distillée
- Tubes jetables
- Bloc chauffant
- centrifugeuse

4. STABILITE ET CONSERVATION

Conserver le kit à 2...8 °C. Les réactifs ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'il est conservé à 2...8 °C.

5. PREPARATION DES REACTIFS

Il est très important porter tous les réactifs et échantillons à température ambiante (20...25 °C) et les mélanger avant de commencer le test!

5.1. Plaque de Microtitrage

Les barrettes sécables sont revêtues avec anticorps anti-Dirofilaria. Immédiatement après avoir prélevé les barrettes nécessaires, les barrette restantes doivent être scellés le vide dans de feuille d'aluminium avec le sac de silicium (le déshydratant) fourni et emmagasiner à 2...8 °C.

5.2. Tampon de Lavage (conc. x 20)

Diluer le Tampon de Lavage 1+19; par exemple 10 mL du Tampon de Lavage +190 mL d'eau distillée. Le Tampon de Lavage diluée est stable pendant 5 jours à la température ambiante (20...25 °C). Cas apparaissent des cristaux dans le concentré, chauffer la solution à 37 °C par exemple dans un bain-marie mélangez bien avant dilution.

5.3. Solution de Substrat TMB

La solution est prête à utiliser et doit être emmagasiné à 2...8 °C, à l'abri de la lumière. La solution doit être incolore ou pourrait avoir une légère couleur bleu clair. Si le substrat devient bleu, il peut avoir été contaminé et ne peut pas être utilisé dans le test.

6. PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser des échantillons de sérum vétérinaire pour ce test. Si le Test est réalisé dans les 5 jours après le prélèvement, les échantillons doivent être conservés à 2...8 °C; autrement ils doivent être aliquotés et conservés surgelés (-70...-20 °C). Si les échantillons sont conservés congelés, bien mélanger les échantillons décongelés avant le Test. Éviter les cycles répétés de congélation et décongélation.

L'inactivation par la chaleur des échantillons n'est pas recommandée.

6.1. Dilution de l'échantillon et l'incubation à la chaleur

Avant le test, tous les échantillons doivent être dilués 1+1 avec le tampon de dilution d'échantillon. Distribuez 250 µL échantillon et 250 µL tampon de dilution d'échantillon dans des tubes pour obtenir une dilution 1+1 et mélangez soigneusement avec un Vortex.

En cas de suspicion d'un résultat faussement négatif,, l'échantillon doit être traité par incubation à la chaleur pour inactiver les anticorps intrinsèques. Exemple de protocole: L'échantillon dilué (au moins 500 µL) doit être incubé pendant 10 minutes à 104 °C sur un bloc chauffant. Ensuite, centrifuger l'échantillon à 16.000 x g pendant 5 minutes. Le surnageant peut être utilisé comme échantillon pour des tests ultérieurs.

7. PROCÉDE DE TEST

Lire attentivement la notice d'utilisation **avant de** réaliser le test. La fiabilité des résultats dépend du suivi strict d'utilisation comme décrit. La technique de test suivante a été validée uniquement pour une procédure manuelle. Si le test doit être effectué sur un systèmes automatiques pour ELISA, nous conseillons d'augmenter le nombre d'étapes de lavage de trois à cinq et le volume du Tampon de Lavage de 300 à 350 µL. Faites attention au chapitre 11. Avant de commencer le test, le plan de distribution et d'identification de tous les échantillons et les étalons/contrôles (il est recommandé déterminer en double) doivent être soigneusement établi. Sélectionner le nombre de barrettes ou de puits nécessaires et les placer sur le support.

Réaliser toutes les étapes du test dans l'ordre donné et sans délai.

Un embout de pipette propre et jetable doit être utilisé pour distribuer chaque étalon/contrôle et échantillon.

Régler l'incubateur à 37 ± 1 °C.

1. Pipeter 100 µL de étalons/contrôles et d'échantillons dilués dans leurs puits respectifs. Garder le puits A1 pour le blanc substrat.
2. Couvrir les puits avec le couvercle, fourni dans le kit.
3. **Incuber pendant 1 heure ± 5 minutes à 37 ± 1 °C.**
4. A la fin de l'incubation, enlever le couvercle, aspirer le contenu des puits et laver chaque puits trois fois avec 300 µL du Tampon de Lavage. Éviter les débordements des puits de réaction. L'intervalle entre le cycle de lavage et l'aspiration doit être > 5 sec. À la fin, enlever soigneusement le liquide restant en tapotant les barrettes sur du papier absorbant avant la prochaine étape!
Note: L'étape de lavage est très importante! Un lavage insuffisant peut conduire à une précision faible et de faux résultats.
5. Pipeter 100 µL du conjugué dans tous les puits sauf le puits Blanc A1.
6. **Incuber pendant 30 minutes à température ambiante (20...25 °C).** N'exposer pas à la lumière directe du soleil.
7. Répéter l'étape numéro 4.
8. Pipeter 100 µL de la Solution de Substrat TMB dans tous les puits.
9. **Incuber pendant exactement 15 minutes à température ambiante (20...25 °C) dans l'obscurité.** Une couleur bleue se produit en raison d'une réaction enzymatique.
10. Pipeter 100 µL de la Solution d'Arrêt dans tous les puits dans le même ordre et à la même vitesse que pour la Solution de Substrat TMB, ainsi, il y a un changement du bleu au jaune.
11. Mesurer l'absorbance à 450/620 nm dans les 30 minutes après l'addition de la Solution d'Arrêt.

7.1. Mesure

Régler le Photomètre de Plaque de Microtitrage ELISA à **zéro** en utilisant le **Blanc substrat**.

Si - pour des raisons techniques - le Photomètre de Plaque de Microtitrage ELISA ne peut pas être ajusté à zéro en utilisant le Blanc substrat, la valeur d'absorbance de cette doit être soustraire la valeur d'absorbance de toutes les autres valeurs d'absorbance mesurées afin d'obtenir des résultats fiables!

Mesurer l'absorbance de tous les puits à **450 nm** et enregistrer les valeurs d'absorbance pour chaque étalon/contrôle et échantillon.

Il est recommandé d'effectuer la mesure **dichromatique** utilisant 620 nm comme longueur d'onde de référence.

Si doubles déterminations ont été effectuées, calculer **les valeurs moyennes d'absorbance**.

8. RESULTATS

8.1. Critères de validation

Pour qu'une série d'analyses soit considérée comme valide, ce notice d'utilisation doivent être strictement suivies, et les critères suivants doivent être respectés:

- **Blanc Substrat:** Valeur d'absorbance < **0,100**
- **Contrôle Négatif:** Valeur d'absorbance < **Cut-off**
- **Contrôle Cut-off:** Valeur d'absorbance **0,150 – 1,300**
- **Contrôle Positif :** Valeur d'absorbance > **Contrôle Cut-off**

Lorsque ces critères ne sont pas remplis, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

8.2. Calcul des résultats

La valeur seuil correspond à la moyenne des valeurs d'absorbance du Contrôle Cut-off.

Exemple: 0,44 DO Contrôle Cut-off + 0,42 DO Contrôle Cut-off = 0,86: 2 = 0,43
Cut-off = 0,43

8.2.1. Résultats en unités [NTU]

$$\frac{\text{Valeur (moyenne) d'absorbance de l'échantillon} \times 10}{\text{Cut-off}} = [\text{unités NovaTec} = \text{NTU}]$$

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

8.3. Interprétation des résultats

Cut-off	10 NTU
Positif	> 11 NTU
Zone grise	9 – 11 NTU
Négatif	< 9 NTU

9. PERFORMANCES DU TEST

Pour de plus amples informations sur les caractéristiques de performance spécifiques, veuillez contacter Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH.

9.1. Précision

9.2. Spécificité diagnostique

9.3. Sensibilité diagnostique

9.4. Interférences

Des échantillons hémolytiques ou lipémiques ou ictériques n'ont pas montré d'interférences, avec des concentrations jusqu'à 10 mg/mL de hémoglobine, 5 mg/mL de triglycérides et 0,5 mg/mL de bilirubine.

9.5. Réaction croisée

Des réactions croisées ne peuvent pas être exclues.

10. LIMITES DE LA TECHNIQUE

Une contamination bactérienne ou des cycles de congélation/décongélation répétés de l'échantillon peuvent affecter les valeurs d'absorption.

11. PRECAUTIONS ET AVERTISSEMENTS

- La procédure de test, l'information, les précautions et mises en garde de la notice d'utilisation, doivent être suivies de façon stricte. L'utilisation de ces trousse avec des automates ou dispositifs similaires doit être validée. Aucun changement de la conception, composition et procédure de test, ainsi que l'utilisation avec d'autres produits non approuvés par le fabricant, ne sont pas autorisés; seul l'utilisateur est responsable de tels changements. Le fabricant n'est pas responsable des faux résultats et des incidents dus à ces motifs. Le fabricant n'est pas responsable des résultats fournis par analyse visuelle des échantillons des patients.
- Tous les matériaux d'origine humaine ou animale doivent être considérés et traités comme étant potentiellement infectieux.
- Tous les composants d'origine humaine utilisés pour la fabrication de ces réactifs ont été analysés et ont été trouvés non réactifs en Ag HBs, en anticorps anti-VHI 1 et 2 et en anticorps anti-VHC.
- Ne pas échanger les réactifs ou les Plaques de Microtitrage provenant de différents lots de production.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants avec les réactifs de cette trousse.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Utiliser seulement des embouts de pipette, des distributeurs et du matériel de laboratoire propres.
- Ne pas échanger les bouchons des flacons, pour éviter la contamination croisée.
- Fermer soigneusement les flacons après utilisation pour éviter l'évaporation et la contamination microbienne.
- Avant une nouvelle utilisation, vérifier les flacons de conjugué et de étalon/contrôle, déjà utilisés, pour exclure une contamination microbienne.
- Pour éviter la contamination croisée et des résultats faussement élevés, introduire les échantillons de patients et les réactifs exactement au fond des puits sans éclabousser.
- Le ELISA est uniquement destinée à l'utilisation par un personnel compétent, maîtrisant parfaitement les techniques de travail.
- Pour un contrôle de qualité interne plus poussé, chaque laboratoire doit en outre utiliser des échantillons connus.

11.1. Note de sécurité pour les réactifs contenant des substances dangereuses

Les réactifs peuvent contenir du CMIT/MIT (3 :1) ou du MIT (voir chapitre 3.1)

Par conséquent, les mentions de danger et les conseils de prudence suivants s'appliquent.

Attention



H317	Peut provoquer une allergie cutanée.
P261	Éviter de respirer les aérosols.
P280	Porter des gants de protection/ des vêtements de protection.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment savon à l'eau.
P333+P313	En cas d'irritation ou d'éruption cutanée: consulter un médecin.
P362+P364	Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

Les réactifs peuvent contenir du 5-Bromo-5-nitro-1,3-dioxane (voir chapitre 3.1)

Par conséquent, les mentions de danger et les conseils de prudence suivants s'appliquent.

Attention



H315	Provoque une irritation cutanée.
H319	Provoque une sévère irritation des yeux.
P280	Porter des gants de protection/ des vêtements de protection.
P302+P352	EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU: Laver abondamment savon à l'eau.
P305+P351+P338	EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
P337+P313	Si l'irritation oculaire persiste: Consulter un médecin.

De plus amples informations peuvent être trouvées dans la fiche de données de sécurité.

11.2. Elimination des déchets

Les résidus des produits chimiques et des préparations sont considérés en général comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchet est réglementée par des lois et réglementations nationales et régionales. Contacter les autorités compétentes ou les sociétés de gestion des déchets pour obtenir des renseignements sur l'élimination des déchets dangereux.

Pour plus d'informations sur les matériaux d'emballage, reportez-vous à la section MATÉRIELS D'EMBALLAGE.


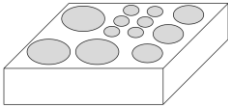

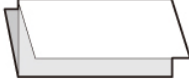



12. INFORMATION POUR LES COMMANDES

Référence: DIRVT4760 VetLine Dirofilaria Antigen ELISA (96 déterminations)






ABBREVIATIONS / ABRÉVIATIONS

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

PACKAGING MATERIALS / MATÉRIELS D'EMBALLAGE

 PAP 21	 PAP 21	 PAP 22	 PAP 22
SOLN STOP WASH BUF 20x SUB TMB DIL CONJL CONTROL + CONTROL - CUT OFF		MTP	
 HDPE 2	 PP 5	 PET / ALU / LDPE 90	

SYMBOLS KEY / EXPLICATION DES SYMBOLES

	Manufactured by / Fabriqué par
LOT	Lot Number / Numéro de lot / Lotto
	Expiration Date / Date de péremption
	Storage Temperature / Température de conservation
REF	Catalogue Number / Référence du catalogue
	Consult Instructions for Use / Consulter la notice d'utilisation
MTP	Microtiterplate / Plaque de Microtitrage
CONJL	Conjugate / Conjugué
CONTROL -	Negative Control / Contrôle Négatif
CONTROL +	Positive Control / Contrôle Positif
CUT OFF	Cut-off Control / Contrôle Cut-off
DIL	Sample Dilution Buffer / Tampon de Dilution d'Échantillon
SOLN STOP	Stop Solution / Solution d'Arrêt
SUB TMB	TMB Substrate Solution / Solution de Substrat TMB
WASH BUF 20x	"Washing Buffer (20x concentrated)"; REF W0000 Washing Buffer 20x concentrated / Tampon de Lavage concentré 20x
	Contains sufficient for "n" tests / Contenu suffisant pour "n" tests

SCHEME OF THE ASSAY

VetLine Dirofilaria Antigen 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+1)
Negative Control	-	100 µL	-	-	-
Cut-off Control	-	-	100 µL	-	-
Positive Control	-	-	-	100 µL	-
Sample (diluted 1+1)	-	-	-	-	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.comWebsite: clinical.goldstandarddiagnostics.com

DIRVT4760 engl, fr-20231025-DH