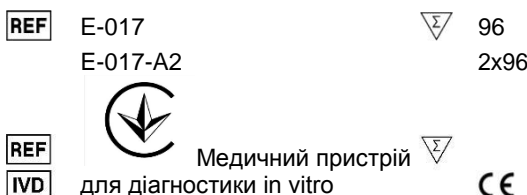


Serazym® Аденовірус ІФА

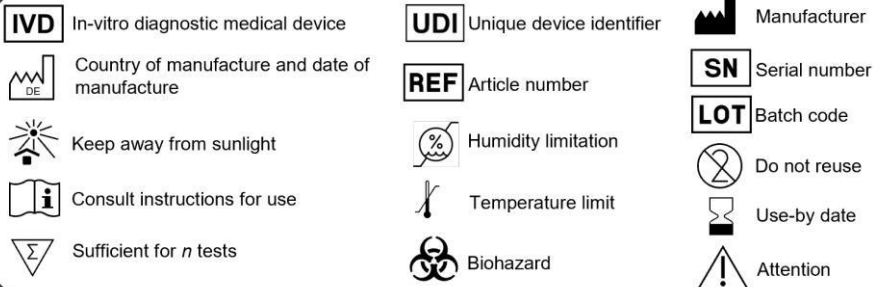
Імуноферментний аналіз для якісного визначення білка гексону патогенних для людини аденовірусів у зразках калу людини.



Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, info@ivset.ua, www.ivset.ua



Seramun Diagnostica GmbH • Spreenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •
T +49 33767 791-10 • info@seramun.com • www.seramun.com



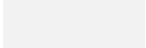
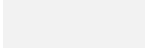









Використання за призначенням

Серазим[®] Аденовірус — це IVD-тест для якісного визначення білка гексону патогенних для людини аденовірусів у зразках калу людського походження професійним лабораторним користувачем. Він призначений для допомоги в діагностиці аденовірус-асоційованого гастроентериту у зразках пацієнтів із симптомами гастроентериту. Тест не можна використовувати з такими матеріалами зразків, як мазки з очей, мазки з горла, зразки біопсії, культуральні суспензії та інші матеріали, окрім зразків калу людського походження, для скринінгу, моніторингу, діагностики, прогнозу, прогнозування, як супутньої діагностики, в умовах поряд з пацієнтами і непрофесіоналами.

Принцип тесту

Серазим[®] Аденовірус — це імуоферментний аналіз, заснований на моноклональних антитілах проти епітопу гексону капсидного білка, спільного для всіх серотипів патогенних для людини аденовірусів. Розведені необроблені зразки калу, а також негативний і позитивний контроль розподіляються одночасно з міченими пероксидазою (HRP) моноклональними антиаденовірусними антитілами в лунки мікропланшета, покриті моноклональними антиаденовірусними антитілами. Після інкубації незв'язані компоненти видаляються за допомогою етапу промивання, потім HRP перетворює безбарвний розчин субстрату на синій продукт реакції на наступному етапі ферментативної реакції. Після інкубації реакцію зупиняють додаванням стоп-розчину, що призводить до зміни кольору з синього на жовтий. Оптична густина (ОГ) продукту реакції, виміряна на вимірювальному фільтрі 450 нм і еталонному фільтрі ≥ 620 нм, прямо пропорційна концентрації специфічно зв'язаних антигенів аденовірусу.

Тестові компоненти (обсяг поставки)

		На 96 лунок	На 2x 96 лунок
1		Мікропланшет покритий	12 одноразових розбірних 8-лункових стріпів, маркування фіолетового кольору, вакуумна упаковка з осушувачем
2		моноклональний антиаденовірусні антитіла (миші)	2x 12 одноразових розбірних 8-лункових стріпів, маркування фіолетового кольору, вакуумна упаковка з осушувачем
3		Промивний буфер (10x) Серамун [™] промивний буфер А Буфер на основі TRIS	100 мл концентрату на 1000 мл розчину, безбарвний, білий ковпчок
4		Розріджувач зразків	2x 100 мл концентрату для 2x 1000 мл розчин, безбарвний, білий ковпчок
5		Серамун [®] Зразок розріджувач А На фосфатній основі буфер	100 мл, готовий до використання, жовтий колір Чорний ковпчок
6		Позитивний контроль	1,5 мл, готовий до використання, синій колір, Червоний ковпчок
7		Нативний аденовірус гексоновий антиген, інактивований	3,0 мл, готовий до використання, синій колір, Червоний ковпчок
8		Негативний контроль	1,5 мл, готовий до використання, синій колір, Зелений ковпчок
9		Буфер на основі TRIS	3,0 мл, готовий до використання, синій колір, Зелений ковпчок
10		кон'югат HRP	12 мл, готовий до використання, пофарбований в зелений колір, коричневий ковпчок
11		позначений HRP, моноклональний антиаденовірусні антитіла (миші)	24 мл, готовий до використання, пофарбований в зелений колір, коричневий ковпчок

7	субстрат СерамунБлау® швидкий автомат < 0,1 % 3,3',5,5'-тетраметилбензидин; < 0,05 % водню перекис	15 мл, готовий до використання, безбарвний, синій ковпачок	28 мл, готовий до використання, безбарвний, синій ковпачок
8	Стоп розчин СерамунБлау® СТІЙ 0,25 М сірчаної кислоти	15 мл, готовий до використання, безбарвний, жовтий ковпачок	28 мл, готовий до використання, безбарвний, жовтий ковпачок
9	Покривна плівка	1 шт	-
10	Свідоцтво про Аналіз	1 шт	1 шт
11	Інструкція з використання	1 шт	1 шт

Додаткові матеріали та допоміжні засоби, необхідні для процедури випробування

Регульована одноканальна мікропіпетка • 8-канальна мікропіпетка або багатоканальна мікропіпетка з наконечниками для піпеток • 8-канальний промивний гребінець з вакуумним насосом і очисником пляшки для відходів або мікропланшетів • Зчитувач мікропланшетів з вимірювальним фільтром 450 нм і еталонним фільтром ≥ 620 нм • дейонізована вода • мірний циліндр • пробірки для пробопідготовки

Важлива інформація

Цей пристрій призначений лише для діагностики in vitro. Ретельно дотримуйтесь інструкцій. Набір можуть виконувати лише медичні працівники.



Не використовуйте реактиви з пошкоджених упаковок або пляшок. Необхідно дотримуватися вказаний термін придатності. Не змішуйте компоненти з реактивами інших виробників.

Змішування компонентів тест-набору з різних партій дозволяється лише для промивного буфера (10x), розріджувача зразка, субстрату та стоп-розчину.

Промивний буфер (10x), розріджувач зразків, субстрат і стоп-розчин універсально застосовуються для Serazym® стілець ІФА Adenovirus (E-017), Astrovirus (E-045), Campylobacter (E-093), Clostridium difficile GDH (E-107), Clostridium difficile Toxin A+B (E-040), Cryptosporidium parvum (E-039), Entamoeba histolytica (E-018), Giardia (E-106), Н. pylori 2-го покоління (E-114), норовірус (E-061) і ротавірус (E-020),

Усі серйозні інциденти, що відбуваються у зв'язку з Serazym® Необхідно повідомити про аденовірус виробнику та компетентному органу країни-члена ЄС, у якій знаходиться користувач та/або пацієнт.

Інформація про процедуру аналізу

Усі реагенти слід зберігати при 2...8 °С. Перед використанням доведіть усі тестові компоненти до кімнатної температури.

Не слід використовувати реагенти, які виглядають забрудненими.

Кожну лунку мікропланшета можна використовувати лише один раз. Кожен зразок і контроль слід пропіпетувати новим наконечником піпетки. Позитивний і негативний контроль готові до використання.

Для більших серій зразків рекомендується піпетувати реагенти з рідинних резервуарів за допомогою багатоканальної мікропіпетки, щоб уникнути затримок і забруднення. Дотримуйтеся схеми дозування та часових розкладів протоколу.



Етапи аспірації та промивання можна виконувати вручну або за допомогою промивача мікропланшетів або водоструминного насоса. Мінімальний час реакції промивного розчину в лунках повинен становити 5 с на цикл промивання. Видаліть залишки промивного буфера шляхом ретельної аспірації або вибивання лунок! Бережіть субстрат від світла!

Інструкції з техніки безпеки

Реагенти не можна ковтати. Слід уникати контакту зі шкірою або слизовими оболонками. Поводьтеся з усіма компонентами та зразками пацієнтів як із потенційно небезпечними та інфекційними.

Додаткову інформацію можна взяти з Паспорту безпеки.

Продукт містить наступні небезпечні компоненти:

Тестовий компонент	Маркування небезпеки та додаткова інформація про інгредієнти
WELLS	Містить речовину тваринного походження.
WASHBUF (10x)	EUH208: містить реакційну масу 5-хлор-2-метил-2H-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2H-ізотіазол-3-ону (3:1). Може викликати алергічну реакцію. EUH210: Паспорт безпеки надається за запитом. Консерванти: < 0,0015 % реакційної маси 5-хлор-2-метил-2H-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2H-ізотіазол-3-ону (3:1); < 0,1 % 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан
DIL	Містить речовину тваринного походження. Консерванти: < 0,1 % азиду натрію
CONTROL +	Містить матеріал мікробного та тваринного походження. Консерванти: < 0,1 % азиду натрію
CONTROL -	Містить речовину тваринного походження. Консерванти: < 0,01 % азиду натрію
CONJ HRP	EUH210: Паспорт безпеки надається за запитом. Містить речовину тваринного походження. Консервант: < 0,01 % 5-бром-5-нітро-1,3-діоксан
SUBSTR	Небезпечний компонент: 2-піролідон Сигнальне слово: Небезпека  H319: Викликає серйозне подразнення очей. H360: Може пошкодити фертильність або ненароджену дитину. P201: Отримати спеціальні інструкції перед використанням. P280: Одягайте захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя. P305+P351+P338: У РАЗІ ПОПАДАННЯ В ОЧІ: Обережно промийте водою протягом кількох хвилин. Зніміть контактні лінзи, якщо вони є і це легко зробити. Продовжуйте полоскання. P308+P313: У РАЗІ контакту або занепокоєння: зверніться за медичною порадою/допомогою.
STOP	Обмежено для професійних користувачів. Консерванти: < 0,00015 % реакційної маси 5-хлор-2-метил-2H-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2H-ізотіазол-3-ону (3:1)  Небезпечний компонент: сірчана кислота 2,5 % Сигнальне слово: Попередження H290: Може викликати корозію металів.

Обмеження Процедури

Якісне ферментно-імунологічне визначення аденовірус-специфічних антигенів у зразках калу не дозволяє встановити кореляцію між вимірною ОГ та тяжкістю інфекції. Також не дозволяється співвідносити абсорбцію зразків із абсорбцією позитивного контролю.

Перехресне забруднення реагентів і зразків може призвести до помилкових результатів. Неправильні розведення, недостатньо гомогенізовані зразки та частинки, які не осідають центрифугуванням, можуть спричинити хибнопозитивні та хибнонегативні результати тесту. Рекомендується відбирати зразки під час гострої фази інфекції, оскільки очікується, що кількість виділених частинок у цій фазі досягне максимуму. Негативний результат тесту, отриманого з Serazym[®] Аденовірус не виключає аденовірусної інфекції. Хибнонегативні тести можуть бути результатом неправильного часу збору зразка або неоднорідного розподілу антигену в зразку. Загальна інтерпретація результату ІФА повинна враховувати повну клінічну картину.

Обробка зразків

Збір зразків

Зберіть зразок калу у відповідний контейнер для зразків.

Зразок терміну придатності та зберігання

Зразки стільця слід зберігати при 2...8 °С одразу після збору та досліджувати протягом 72 годин або зберігати в замороженому вигляді при -20 °С. Слід уникати повторного (> 3х) заморожування та розморожування зразків через ризик отримання неправильних результатів.

Зразки стільця, які вже були розведені в Серамуні[®] Зразок розріджувач А відповідно до інструкції із застосування можна зберігати при 2...8 °С протягом 72 годин і потім аналізувати за допомогою ІФА.

Підготовка зразка

Добре перемішайте необроблені зразки калу та розведіть 1:6 буфером для зразків.

Приклад: внесіть 500 мкл буфера для зразка в реакційну пробірку. Для твердих або напівтвердих зразків стільця перенесіть 100 мг (діаметром приблизно 2–3 мм) за допомогою одноразової палички, для зразків рідкого калу перенесіть 100 мкл у буфер для зразків і ретельно перемішайте. При необхідності осадіть зважені частинки шляхом центрифугування в мікроцентрифузі протягом 1 хв на максимальній швидкості.

Обробка реагентів

Термін придатності та зберігання реагентів

Повний тестовий набір із запечатаними пляшками з реагентами та смужками для мікротитрування можна зберігати при 2...8 °С до закінчення терміну придатності. Усі компоненти відкритого тестового набору стабільні протягом 2 місяців за умови належного зберігання при 2...8 °С. Розведений промивний буфер можна зберігати при 2...8 °С до 1 місяця.

Приготування реагентів

Планшет для мікротитрування з розривними 8-лунковими стріпами, запечатаними під вакуумом осушувачем. Перед відкриттям дайте упаковці досягти кімнатної температури. Захищайте невикористані лунки від вологи та зберігайте в холодильнику з осушувачем в оригінальному пакеті, ретельно запечатаному. Розведіть промивний буфер (10х) 1:10 дейонізованою водою.

Приклад: 10 мл промивного буфера (10х) + 90 мл дейонізованої води.

Процедура аналізу

1. Дайте тестовим реагентам і необхідній кількості лунок досягти кімнатної температури (RT). Перед використанням обережно збовтайте реагенти. Уникати піноутворення.
2. Додайте 2 краплі (або 75 мкл) **CONJ HRP** кон'югат HRP на лунку.
3. Додайте 75 мкл **CONTROL +** Позитивний контроль
75 мкл **CONTROL -** Негативний контроль
50 мкл розведеного зразка калу та обережно перемішайте.
4. Накрийте планшет та інкубуйте протягом 60 хв при кімнатній температурі.
5. Злийте, потім промийте кожну лунку 5 разів 300 мкл розведеного промивного буфера. За потреби витріть насухо на абсорбуючий папір.
6. Додайте 2 краплі (або 75 мкл) **SUBSTR** субстрату на лунку.
7. Інкубуйте 10 хв при кімнатній температурі в захищеному від світла місці.
8. Додайте 2 краплі (або 75 мкл) **STOP** зупинити розчин на лунку, обережно перемішати.
9. Зчитайте ОГ на вимірювальному фільтрі 450 нм і еталонному фільтрі ≥ 620 нм за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів протягом 30 хвилин після зупинки реакції.

Оцінка результатів

Якісна оцінка:

Визначення порогового значення: ОГ негативний контроль + 0,20

Зразки зі значеннями ОГ, що дорівнюють або перевищують порогове значення, вважаються позитивними, зразки зі значеннями ОГ, нижчими від порогового, вважаються негативними на геконовий білок патогенних для людини аденовірусів.

Тестовий запуск дійсний, якщо:

- середній ОГ негативного контролю становить 0,20 (ручна обробка)
0,30 (автоматична обробка)
- середній ОГ позитивного контролю становить 1.20

Якщо вищезазначені критерії якості не відповідають, тест слід повторити, суворо дотримуючись процедури тесту (час і температури інкубації, розведення зразка та промивного буфера, етапи промивання тощо). У разі повторного невиконання критеріїв якості зверніться до виробника.

Інтерпретація результатів

Позитивний	\geq порогового
Негативний	$<$ порогового

Рекомендується, щоб кожна лабораторія встановлювала власні нормальні та патологічні контрольні діапазони.

Експлуатаційні характеристики

Точність

Щоб визначити точність, 4 зразки калу вимірювали кілька разів. Для визначення в аналізі коефіцієнта варіації (CV) зразки вимірювали у 8-кратному визначенні за один тест. Визначення коефіцієнта варіації між аналізами було виконано шляхом 8-кратного визначення в 6 різних тестових прогонах.

Зразок	В аналізі варіація		Між аналізами варіація	
	∞	CV (%)	∞	CV (%)
1	2,792	5.7	1,850	5.8
2	2,059	8.1	1,057	6.5
3	1,368	6.9	0,574	7.3
4	0,718	9.4	0,312	9.6

Межа виявлення

Нижня межа виявлення Серазиму[®] Аденовірус визначали титруванням очищеного антигену аденовірусу (білка гексону) при 6 нг/мл.

Чутливість і специфічність

Чутливість і специфічність Серазиму[®] Аденовірус було визначено в ретроспективному дослідженні з 330 зразками калу в порівнянні з комерційно доступним ІФА.

n = 330	ІФА позитивний	ІФА негативний
Серазим [®] ІФА позитивний	55	1
Серазим [®] ІФА негативний	2	272

Чутливість: 96,5 %

Специфічність: 99,6 %

Перехресна реактивність

Зразки калу, позитивні для одного з наступних збудників, були протестовані за допомогою Serazym[®] Аденовірус не виявив перехресної реактивності:

Астровірус, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Giardia lamblia*, норовірус, ротавірус і *Salmonella enteritidis*.

У негативну суспензію калу додавали наступні мікроорганізми з кількістю бактерій $\geq 10^8$ колонієутворюючих одиниць на мл у буфері для зразків і негативний тест у

Serazym[®] Аденовірус (450 нм вимірювальний фільтр і ≥ 620 нм еталонний фільтр < порогового значення):

<i>Aeromonas гідрофільна</i>	(ATCC 7966)
<i>Bacillus cereus</i>	(ATCC 11778)
<i>Bacillus subtilis</i>	(ATCC 6633)
<i>Bacteroides fragilis</i>	(ATCC 25285)
<i>Candida albicans</i>	(ATCC 10231)
<i>Campylobacter coli</i>	(ATCC 33559)
<i>Campylobacter jejuni</i>	(ATCC 33291)
<i>Citrobacter freundii</i>	(ATCC 8090)
<i>Clostridium sordellii</i>	(ATCC 9714)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(ATCC 13048)
<i>Enterobacter cloacae</i>	(ATCC 13047)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(ATCC 29212)
Кишкова паличка	(ATCC 25922)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 13883)
<i>Пептострептокок анаеробний</i>	(ATCC 27337)
<i>Протеї звичайний</i>	(ATCC 8427)
<i>Синьогнійна паличка</i>	(ATCC 10145)
<i>Серовар Salmonella enterica enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Серовар Salmonella enterica тифімуриї</i>	(ATCC 14028)
<i>Shigella flexneri</i>	(ATCC 12022)
<i>Shigella sonnei</i>	(ATCC 25931)
<i>Золотистий стафілокок</i>	(ATCC 25923)
<i>Епідермальний стафілокок</i>	(ATCC 12228)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	(ATCC 17802)
<i>Холерний вібрион</i>	Клінічний ізолят
<i>Серотипу Yersinia enterocolitica O3 і O9</i>	Клінічний ізолює

Вплив

Жодна з наступних речовин у зазначених концентраціях, доданих до позитивних і негативних зразків калу з аденовірусом, не виявила істотного впливу на результат тесту:

Сульфат барію (5%), Бускопан[®] (2 мг/мл), цикламат (5 %), диклофенак (2 мг/мл), гемоглобін людини (5 мг/мл), кров людини (1,25 %), гілак N (5 %), Іберогаст[®] (5 %), імодіум[®] акут дуо (0,2/12,5 мг/мл), лоперамід (0,2 мг/мл), метронідазол (2 мг/мл), муцин (5 мг/мл), нексиум[®] (2 мг/мл), пальмітинова кислота (20 %), пентофурил[®] (2 мг/мл), пепто-бісмол (1 мг/мл), перентерол (2,5 мг/мл), Ренні[®] (8 мг/мл), Сімагель[®] (2 мг/мл), стеаринова кислота (20 %), ванкомицин (2 мг/мл).

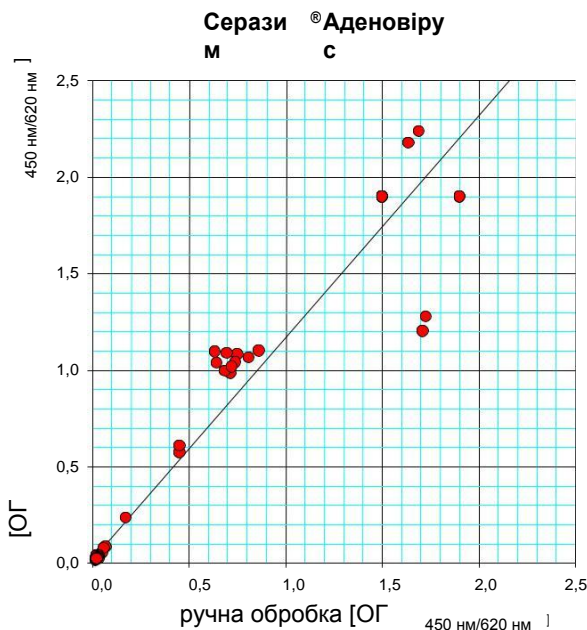
застосування

Автоматична обробка

Виконання Serazym[®] Аденівірус на повністю автоматизованих процесорах мікропланшетів (наприклад, DS2[®], DSX[®]; Dynex Technologies) може спричинити підвищення значень поглинання порівняно з ручною процедурою через відмінності в процедурах прання та технічних характеристиках обладнання. У цих випадках для негативного контролю допустиме максимальне значення ОГ = 0,3. Рекомендується запрограмувати протокол промивання з часом замочування 10 с на стріп та крок промивання. Після кожного циклу прання рекомендується заключний етап миття дейонізованою водою та час замочування 10 с. При необхідності кількість етапів прання можна збільшити до 7 або 8 разів.

Співвідношення: ручна – автоматична обробка

Панель із 111 зразків стільця була оброблена вручну та автоматично паралельно (DS2[®], Dynex Technologies). Коефіцієнт кореляції розраховано при $r = 0,974$.



Історія змін

Версія	Розділ	Модифікації
2022-09_v01	Весь документ	Оновлення використання за призначенням Перетворення підрозділів Вставка інструкцій з техніки безпеки Зміна розведення зразка Видалення схеми піпетування
2023-11_v02	Весь документ	Оновлення важливої інформації; Інструкції з техніки безпеки Редакційні зміни

Список літератури

1. Ментель, Р. і Донер, Л. (1996): «Людський аденовірус». Diagnostische Bibliothek, Band 1 Virusdiagnostik, Hrsg. Томас Порстманн, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, Wien 1996, S. 103-114.
2. Schoenemann W. (1988): «Bedeutung von Adenovirusinfektionen im Säuglings- und Kleinkindesalter». Monatsschrift Kinderheilkunde 136: 680-685.
3. Crenshaw, B та ін. (2019): «Погляд на аденовіруси: епідеміологія, патогенність і генна терапія». Біопрепарати 7 (61). <https://doi.org/10.3390/biomedicines7030061>