




Інструкція з використання

Serazym® Ротавірус ІФА

Імуноферментний аналіз для якісного визначення антигену VP-6 (капсидного білка) ротавірусу групи А у зразках калу людини.

REF	E-020		96
	E-020-A2		2x96
			
REF		Медичний пристрій	
IVD		для діагностики in vitro	CE



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

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



In-vitro diagnostic medical device



Unique device identifier



Manufacturer



Country of manufacture and date of manufacture



Article number



Serial number



Keep away from sunlight



Humidity limitation



Batch code



Consult instructions for use



Temperature limit



Do not reuse



Sufficient for n tests



Biohazard



Use-by date



Attention

Використання за призначенням

Серазим[®] Ротавірус — це IVD-тест для якісного визначення антигену VP-6 (капсидного білка) ротавірусів групи А у зразках калу людського походження професійним лабораторним користувачем.

Він призначений для допомоги в діагностиці асоційованого з ротавірусом гастроентериту у зразках пацієнтів із симптомами гастроентериту.

Тест не можна використовувати з матеріалами зразків, такими як зразки біопсії, вода, культуральні суспензії та інші матеріали, окрім зразків калу людського походження, для скринінгу, моніторингу, діагностики, передбачення, прогнозу, як супутньої діагностики, в умовах поряд з пацієнтом і непрофесіоналами.

Принцип аналізу

Серазим[®] Ротавірус – це імуоферментний аналіз, заснований на поліклональних антитілах проти епітопу групспецифічного антигену VP-6, основного білка ротавірусів групи А. Розведені, необроблені зразки калу, а також негативний і позитивний контроль розподіляються одночасно з міченими пероксидазою (HRP) поліклональними анти-ротавірусними антитілами в лунки мікропланшета, покритого поліклональними антиротавірусними антитілами. Після інкубації незв'язані компоненти видаляються за допомогою етапу промивання, HRP перетворює безбарвний розчин субстрату на синій продукт реакції на наступному етапі ферментативної реакції. Реакцію зупиняють додаванням стоп-розчину, що призводить до зміни кольору з синього на жовтий. Оптична густина (ОГ) продукту реакції, виміряна при вимірюванні 450 нм і референсному фільтрі ≥ 620 нм відповідно, прямо пропорційна концентрації специфічно зв'язаного ротавірусного антигену.

Тестові компоненти (обсяг поставки)

		На 96 лунок	Для 2 x 96 лунок
1	Мікропланшет Покритий поліклональними антитілами (овечі) проти ротавірусу	12 одноразових розбірних 8-луночних стріпів, темно-синій колір маркування, вакуум-запечатаний з осушувачем	2x 12 одноразових розбірних 8-луночних стріпів, маркування темно-синього кольору, вакуумна упаковка з осушувачем
2	Промивний буфер (10x)		
3	Серамун [™] промивний буфер А Буфер на основі TRIS	100 мл концентрату на 1000 мл розчину, безбарвний, білий ковпачок	2x 100 мл концентрату для 2x 1000 мл розчину, безбарвний, Білий ковпачок
4	Розчинник зразків Серамун [®] Зразок розчинник А На фосфатній основі буфер	100 мл, готовий до використання, жовтий колір Чорний ковпачок	2x 100 мл, готовий до використання, жовтий колір Чорний ковпачок
5	Позитивний контроль Ротавірус реактивний зразок	1,5 мл, готовий до використання, синій колір, Червоний ковпачок	3,0 мл, готовий до використання, синій колір, Червоний ковпачок
	Негативний контроль Буфер на основі TRIS	1,5 мл, готовий до використання, синій колір, зелений ковпачок	3,0 мл, готовий до використання, синій колір, зелений ковпачок

6	кон'югат HRP позначений HRP, поліклональний проти ротавірусу антитіла (кролячі)	12 мл, готовий до використання, зелений колір, Коричневий ковпачок	24 мл, готовий до використання, зелений колір, Коричневий ковпачок
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	Свідцтво 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 дотримуйтеся інструкції. 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 різних партій дозволено лише для розчинника зразка, промивного буфера (10x), субстрату та стоп-розчину.

Розріджувач зразків, промивний буфер (10x), 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), H. 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 ротавірус 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 потрібно 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)	EUN208: містить реакційну масу 5-хлор-2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону (3:1). Може викликати алергічну реакцію. EUN210: Паспорт безпеки надається за запитом. Консерванти: < 0,0015 % реакційної маси 5-хлор-2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2Н-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	EUN208: містить реакційну масу 5-хлор-2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону (3:1). Може викликати алергічну реакцію. EUN210: Паспорт безпеки надається за запитом. Містить речовину тваринного походження. Консервант: < 0,0015 % реакційної маси 5-хлор-2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону (3:1); < 0,1 % 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. Обмежено для професійних користувачів.

Тестовий компонент	Маркування небезпеки та додаткова інформація про інгредієнти
	Консерванти: < 0,00015 % реакційної маси 5-хлор-2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону та 2-метил-2Н-ізотіазол-3-ону (3:1)
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">STOP</div>	Небезпечний компонент: сірчана кислота 2,5 % Сигнальне слово: Попередження  H290: Може викликати корозію металів.

Обмеження Процедури

Якісне ферментне імунологічне визначення ротавірусу в зразках калу не дозволяє встановити кореляцію між виміряною ОГ і тяжкістю інфекції. Також не дозволяється співвідносити поглинання 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. Дослідження зразків, взятих після гострої фази інфекції, може призвести до хибно негативних результатів, оскільки кількість вірусних частинок може впасти нижче межі виявлення тесту. Вакцинальні віруси, введені перорально як частина ротавірусної вакцинації, можуть виводитися з організму і викликати позитивний результат тесту. Негативний результат тесту, отриманого з Serazym® Ротавірус не виключає зараження. 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 калу слід зберігати при температурі 2...8 °С відразу після збору та досліджувати протягом 72 годин або зберігати в замороженому вигляді при -20 °С. Слід уникати повторного заморожування (> 3х) і 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 стільця перенесіть 100 мкл у буфер для зразків і ретельно перемішайте. При необхідності осадіть зважені частинки шляхом центрифугування в мікроцентрифусі протягом 1 хв на максимальній швидкості.

Обробка реагентів

Термін придатності та зберігання реагентів

Повний тестовий набір із запечатаними пляшками з реагентами та стріпами для мікротитрування можна зберігати при 2...8 °С до закінчення терміну придатності. Усі компоненти відкритого тестового набору стабільні протягом 2 місяців за умов 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 Seramun® Промивний буфер А (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. додати 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** стоп розчину 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, які показують значення ОГ, що дорівнюють або перевищують порогове значення, вважаються позитивними, зразки зі значеннями ОГ, нижчими від порогового, вважаються негативними щодо ротавірус-специфічних антигенів VP-6.

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 12-кратному визначенні в одному тестовому циклі.

Визначення коефіцієнта варіації між аналізами проводили шляхом 3-кратного визначення в 10 різних тестових прогонах.

Зразок	В аналізі коефіцієнт варіації		Між аналізами коефіцієнт варіації	
	–	CV (%)	–	CV (%)
1	1,841	7.5	2,720	4.7
2	1,208	6.5	1,647	7.4
3	0,620	6.4	0,968	7.7
4	0,463	5.3	0,409	4.6

Межа виявлення

Нижня межа виявлення Серазиму® Ротавірус визначали шляхом титрування очищеного штаму ротавірусу SA-11 з < 10 нг/мл (що відповідає 10^6 вірусних частинок/г зразка калу).

Чутливість і специфічність

Чутливість і специфічність Серазиму® Ротавірус було визначено в ретроспективному дослідженні з 488 зразками калу в порівнянні з комерційно доступним ІФА.

n = 488	ІФА позитивний	ІФА негативний
Серазим® ІФА позитивний	246	0
Серазим® ІФА негативний	4	238

Чутливість: 98,4 %

Специфічність: 100 %

Перехресна реактивність

Табурет зразки позитивний для один з наступні патогени
мати був перевірено з в

Серазим® Ротавірус і не показали перехресної реактивності:

Аденовірус, астровірус, Campylobacter coli, Campylobacter jejuni, Clostridioides difficile, Giardia lamblia, норовірус, Salmonella enteritidis та зразки калу з виявленими рівнями (> 10 мкг/г) гемоглобіну.

У негативну суспензію калу додавали наступні мікроорганізми з кількістю бактерій ≥ 10⁸ колонієутворюючих одиниць на мл у буфері для зразків і негативний тест у

Serazym® Ротавірус
(вимірювання 450 нм і еталонний фільтр ≥ 620 нм < межа):

<i>Aeromonas гидрофильна</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)
<i>Кишкова паличка</i>	(ATCC 25922)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 13883)
<i>Пептострептокок анаеробний</i>	(ATCC 27337)
<i>Протей звичайний</i>	(ATCC 8427)
<i>Синьогнійна паличка</i>	(ATCC 10145)
<i>Salmonella enterica Serovar enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Salmonella enterica Serovar тифімуриі</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>Yersinia enterocolitica Serotyp O3, O9</i>	Клінічний ізолят

Вплив

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

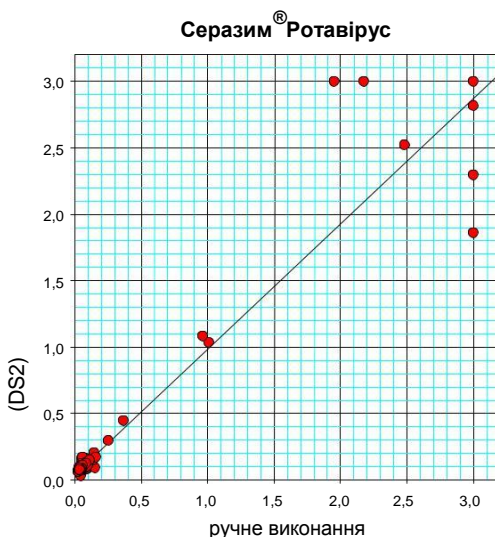
Сульфат барію (5%), Бускопан® (2 мг/мл), цикламат (5 %), диклофенак (2 мг/мл), гемоглобін людини (5 мг/мл), кров людини (5 %), Нулак® N (5 %), Іберогаст® (5 %), імодіум® акут® дуо (0,2 / 12,5 мг/мл), лоперамід (0,2 мг/мл), метронідазол (2 мг/мл), муцин (5 мг/мл), нексіум® (2 мг/мл), пальмітинова кислота (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 %), ванкоміцин (2 мг/мл).

Автоматична обробка

Виконання Serazym[®] Ротавірус 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 133 зразків стула була оброблена вручну та автоматично паралельно (DS2[®], Dynex Technologies). Коефіцієнт кореляції розраховано при $r = 0,96$.



Історія змін

Версія	Розділ	Модифікації
2022-08_v01	Весь документ	Оновлення використання за призначенням Перетворення підрозділів Вставка інструкцій з техніки безпеки Видалення схеми піпетування
2023-08_v02	Весь документ	Оновлення важливої інформації; Інструкції з техніки безпеки Редакційні зміни

Список літератури

1. Böthig, B. und Diedrich, S. (1996): "Rotaviren" in Diagnostische Bibliothek Band 1 Virusdiagnostik, Hrsg. Томас Порстманн, Blackwell Wissenschafts-Verlag Berlin, Wien, S. 441-451.
2. Коулсон, Б. С. та Холмс, І. Г. (1984): «Покращений Імуноферментний аналіз для Виявлення ротавірусу у фекаліях новонароджених». Журнал вірусологічних методів 8: 165-179.
3. Цюкор Г. та ін. (1984): «Виявлення ротавірусу в калі людини за допомогою моноклональних антитіл». Журнал клінічної мікробіології 19: 888-892.
4. Cukor G. i NR Blacklow (1984): «Вірусний гастроентерит людини». Мікробіологічні огляди 48 (2): 157-179.
5. Grauballe, BF та ін. (1981): «Оптимізований імуноферментний аналіз для виявлення Ротавірусу людини та бика в калі: порівняння з електронно-мікроскопією, імуоелектро-Методи осмозорефу та флуоресцентних антитіл». Журнал медичної вірусології 7: 29-40.
6. Інститут Роберта Коха, RKI-Ratgeber, Rotaviren-Gastroenteritis; https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Rotaviren.html