




















# Serazym<sup>®</sup> Norovirus

Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis des Kapsidproteins (VP1) humanpathogener Noroviren der Genogruppen GI und GII in Stuhlproben humanen Ursprungs

<b>REF</b>	E-061		96
<b>REF</b>	E-061-A2		2x96
<b>IVD</b>	In-vitro-Diagnostikum		<b>CE</b>



**Seramun Diagnostica GmbH** • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •  
 T +49 33767 791-10 • [info@seramun.com](mailto:info@seramun.com) • [www.seramun.com](http://www.seramun.com)

 <b>UDI</b> Eindeutige Produktidentifizierung	 <b>IVD</b> In-vitro Diagnostikum	 Hersteller
 Land der Herstellung und Datum der Herstellung	 Nicht wiederverwenden	 <b>SN</b> Seriennummer
 Begrenzung der Luftfeuchtigkeit	 Vor Sonnenlicht schützen	 <b>REF</b> Artikelnummer
 Gebrauchsanweisung beachten	 Verwendbar bis	 <b>LOT</b> Chargennummer
 Ausreichend für <i>n</i> Prüfungen	 Biologisches Risiko	 Temperaturbereich
		 Achtung

## Zweckbestimmung

Serazym® Norovirus ist ein IVD-Test zur qualitativen Bestimmung des Kapsidproteins (VP1) human-pathogener Noroviren der Genogruppen GI und GII in Stuhlproben humanen Ursprungs durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Er dient der Diagnosehilfe einer Norovirus-assoziierten Gastroenteritis in Proben von Patienten mit Symptomen einer Gastroenteritis.

Der Test darf nicht verwendet werden mit Probenmaterialien wie Biopaten, Abstrichen, Lebensmitteln, Wasser, Mageninhalt, Kultursuspensionen und anderen Materialien als Stuhlproben humanen Ursprungs, zu Diagnose, Screening, Vorhersage, Überwachung, Prognose, als therapiebegleitendes Diagnostikum, in patientennaher Umgebung und durch Laienanwender.

## Testprinzip

Serazym® Norovirus ist ein Enzymimmunoassay auf der Basis polyklonaler Antikörper gegen Norovirus Kapsidprotein VP1 der Genotypen GI und GII. Verdünnte unbehandelte Stuhlproben sowie Negativ- und Positivkontrollen werden in die mit polyklonalen anti-Norovirus-Antikörpern beschichteten Kavitäten der Mikrotiterplatte dosiert. Nach Inkubation werden ungebundene Komponenten durch einen Waschschrift entfernt und Peroxidase (HRP)-markierte polyklonale anti-Norovirus-Antikörper in die Kavitäten dispensiert. Nach erneuter Inkubation und einem weiteren Waschschrift setzt die HRP im folgenden enzymatischen Reaktionsschritt die farblose Substratlösung in ein blaues Reaktionsprodukt um. Diese Reaktion wird nach Inkubation durch Zugabe der Stopplösung beendet, wodurch ein Farbumschlag der blauen Lösung zu gelb auftritt. Die bei 450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter gemessene optische Dichte (OD) des Endprodukts ist zur Konzentration der spezifisch gebundenen Norovirus-Antigen direkt proportional.

## Testkomponenten (Lieferumfang)

			<b>Für 96 Kavitäten</b>	<b>Für 2x 96 Kavitäten</b>
1	<b>WELLS</b>	<b>Mikrotiterplatte</b> beschichtet mit polyklonalen anti-Norovirus-Antikörpern (Schaf)	12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten, Farbmarkierung silber, vakuumversiegelt mit Trockenbeutel	2 x 12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten, Farbmarkierung silber, vakuumversiegelt mit Trockenbeutel
2	<b>WASHBUF (10x)</b>	<b>Waschpuffer (10x)</b> Seramun® Wash buffer A TRIS-basierter Puffer	100 mL Konzentrat für 1000 mL Lösung, weiße Kappe	2 x 100 mL Konzentrat für 2 x 1000 mL Lösung weiße Kappe
3	<b>DIL</b>	<b>Probenpuffer</b> Seramun® Sample diluent A Phosphat-basierter Puffer	100 mL, gebrauchsfertig, gelb gefärbt, schwarze Kappe	2 x 100 mL, gebrauchsfertig, gelb gefärbt, schwarze Kappe
4	<b>CONTROL +</b>	<b>Positivkontrolle</b> Rekombinantes Norovirus Kapsidprotein	2,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, rote Kappe	4,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt rote Kappe
5	<b>CONTROL -</b>	<b>Negativkontrolle</b> TRIS-basierter Puffer	2,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt, grüne Kappe	4,0 mL, gebrauchsfertig, blau gefärbt grüne Kappe

6	CONJ HRP	<b>HRP-Konjugat</b> HRP-markierte polyklonale anti- Norovirus- Antikörper (Schaf)	15 mL, gebrauchsfertig, grün gefärbt, braune Kappe	25 mL, gebrauchsfertig, grün gefärbt, braune Kappe
7	SUBSTR	<b>Substrat</b> SeramunBlau® automat fast < 0,1 % 3,3',5,5'- Tetramethyl- benzidin; < 0,05 % Wasserstoffperoxid	15 mL, gebrauchsfertig, farblos, blaue Kappe	28 mL, gebrauchsfertig, farblos, blaue Kappe
8	STOP	<b>Stopplösung</b> SeramunBlau® stop 0,25 M Schwefelsäure	15 mL, gebrauchsfertig, farblos, gelbe Kappe	28 mL, gebrauchsfertig, farblos, gelbe Kappe
9	COVER	<b>Abklebefolie</b>	2 Stück	-
10		<b>Analysenzertifikat</b>	1 Stück	1 Stück
11		<b>Gebrauchs- anleitung</b>	1 Stück	1 Stück

## Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Verstellbare Einkanal-Mikropipette • 8-Kanal-Mikropipette bzw. Multikanal-Mikropipette mit Pipettenspitzen • 8-Kanal-Handwaschkamm mit Vakuumpumpe und Abfallbehältern oder Mikrotiterplatten-Waschgerät • Mikrotiterplatten-Photometer mit 450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter • deionisiertes Wasser • Messzylinder • Teströhrchen für die Probenverdünnung

## Wichtige Hinweise



**Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* Gebrauch bestimmt** und darf nur von geschultem Laborfachpersonal durchgeführt werden.

Die Gebrauchsanleitung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck oder seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. Komponenten aus beschädigten Verpackungen bzw. Flaschen dürfen nicht verwendet werden. Die Komplettierung eines geöffneten Testbestecks mit Reagenzien anderer Hersteller ist nicht erlaubt.

**Das Mischen von Testbesteckkomponenten verschiedener Chargen ist nur für die Komponenten Waschpuffer (10x), Probenpuffer, Substrat und Stopplösung erlaubt.**

**Der Waschpuffer (10x), der Probenpuffer, die Substrat- und die Stopplösung können darüber hinaus parameterübergreifend für die Serazym® Stuhlteste Adenovirus (E-017), Rotavirus (E-020), Astrovirus (E-045), Norovirus (E-061), Clostridium difficile Toxin A+B (E-040), Clostridium difficile GDH (E-107), Campylobacter (E-093), Entamoeba histolytica (E-018), Cryptosporidium parvum (E-039), Giardia (E-106) und H. pylori 2nd Gen. (E-114) eingesetzt werden.**

Alle im Zusammenhang mit Serazym® Norovirus auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem Anwender und/oder Patient niedergelassen sind, zu melden.

### Hinweise zur Testdurchführung

Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8 °C. Alle Testkomponenten vor Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen. Reagenzien mit Anzeichen einer Kontamination sollten nicht verwendet werden.

Jede Kavität der Mikrotiterplatte kann nur einmalig benutzt werden. Jede Probe und Kontrolle muss mit einer neuen Pipettenspitze pipettiert werden. Positiv- und Negativkontrolle sind gebrauchsfertig.

Bei größeren Probenserien empfiehlt sich das Pipettieren der Reagenzien aus Flüssigkeitsreservoirs mittels Multikanal-Mikropipette, um Zeitverzögerungen zu vermeiden. Die Reihenfolge der Pipettierschritte und die Dauer der Inkubationsschritte sind einzuhalten.

Die Durchführung der Absaug- und Waschschrte kann manuell oder mit Hilfe eines Mikrotiterplatten-Washers oder einer Wasserstrahlpumpe erfolgen. Beim Waschvorgang dispensierten, verdünnten Waschpuffer mindestens 5 s einwirken lassen und Waschpufferreste durch gründliches Absaugen oder Ausschlagen der Kavitäten entfernen!

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!



### Sicherheitshinweise


Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Schleimhäuten vermeiden.

Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit Patientenproben und Kontrollen sind die Vorschriften zur Unfallverhütung beim Umgang mit potenziell infektiösem Material und gefährlichen Chemikalien zu beachten.

Zusätzliche Informationen über die Angaben in dieser Gebrauchsanleitung hinaus finden sich im Sicherheitsdatenblatt.

Das Produkt enthält folgende gefahrenbestimmende Substanz/en:

Testkomponente	Gefahrenkennzeichnung und ergänzende Angaben zu Inhaltsstoffen
WELLS	Enthält Material tierischen Ursprungs.
WASHBUF (10x)	EUH208: Enthält Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Konservierungsmittel: < 0,0015 % Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1); < 0,1 % 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan
DIL	Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,1 % Natriumazid
CONTROL +	Enthält Material mikrobiellen und tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,1 % Natriumazid
CONTROL -	Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,01 % Natriumazid
CONJ HRP	EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs. Konservierungsmittel: < 0,01 % 5-Brom-5-nitro-1,3-dioxan
SUBSTR	Gefahrbestimmende Komponente: 2-Pyrrolidon Signalwort: Gefahr   H319: Verursacht schwere Augenreizung. H360: Kann die Fruchtbarkeit beeinträchtigen oder das Kind im Mutterleib schädigen. P201: Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen.

Testkomponente	Gefahrenkennzeichnung und ergänzende Angaben zu Inhaltsstoffen
	P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen. P305+P351+P338: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. P308+P313: BEI Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen. Nur für gewerbliche Anwender. Konservierungsmittel: < 0,00015 % Gemisch aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1)
<div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">STOP</div>	Gefahrbestimmende Komponente: Schwefelsäure 2,5 % Signalwort: Achtung  H290: Kann gegenüber Metallen korrosiv sein.

### Grenzen der Methode

Der qualitative enzymimmunologische Nachweis von Norovirus-Antigenen in Stuhlproben lässt keine Korrelation zwischen gemessener OD und Schweregrad der Infektion zu. Die OD der Proben darf auch nicht mit der OD der Positivkontrolle in Korrelation gesetzt werden. Kreuzkontaminationen der Testbesteckreagenzien und Proben können zu falschen Ergebnissen führen. Unkorrekte Verdünnung, ungenügende Homogenisierung der Proben sowie nicht sedimentierte Festbestandteile in zentrifugierten Proben können sowohl zu falsch positiven als auch zu falsch negativen Ergebnissen führen. Ein negatives Ergebnis im Serazym® Norovirus schließt eine Infektion nicht aus. Ursachen falsch negativer Ergebnisse können einerseits durch einen ungünstigen Zeitpunkt der Probennahme und andererseits durch eine inhomogene Antigenverteilung in der Probe bedingt sein. Die Gesamtinterpretation des Testergebnisses im ELISA sollte im Zusammenhang mit dem klinischen Bild erfolgen. Im Einzelfall können Wiederholungsuntersuchungen in mehrwöchigem Abstand hilfreich sein.

## Behandlung der Proben

### Probennahme

Stuhl in geeignetem Probenentnahmegefäß sammeln.

### Probenhaltbarkeit und -lagerung

Stuhlproben sollten sofort nach Entnahme bei 2...8°C gelagert und innerhalb von 72 h untersucht oder eingefroren bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren (> 3x) und Auftauen der Proben ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden. Stuhlproben, die bereits im Seramun® Sample diluent A entsprechend Gebrauchsanleitung verdünnt wurden, können bis zu 72 h bei 2...8°C gelagert und anschließend im ELISA untersucht werden.

### Probenvorbereitung

Unbehandelte Stuhlproben gut durchmischen und mit Probenpuffer 1 : 6 verdünnen. In ein Reaktionsgefäß 500 µL Probenpuffer pipettieren. Bei festen oder halbfesten Stuhlproben 100 mg (etwa 2 - 3 mm Durchmesser) mit einem Einmalstäbchen, bei flüssigen Stuhlproben 100 µL in den Probenpuffer überführen und sorgfältig mischen. Gegebenenfalls Schwebeteilchen durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge 1 min bei maximaler Drehzahl sedimentieren.

## Behandlung der Reagenzien

### Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzienflaschen und Mikrotitrationsstreifen ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfalldatum haltbar. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat haltbar.

### Reagenzienvorbereitung

Die Mikrotiterplatte mit teilbaren Streifen ist in einem aluminiumbeschichteten Beutel zusammen mit Trockenmittel vakuumversiegelt. Öffnen der Verpackung erst nach Erreichen der Raumtemperatur. Nicht gebrauchte Kavitäten vor Feuchtigkeit schützen und zusammen mit dem Trockenmittel in den Beutel zurücklegen und verschließen. Waschpuffer (10x) 1 : 10 mit deionisiertem Wasser verdünnen. Beispiel: 10 mL Waschpuffer (10x) + 90 mL deionisiertes Wasser.

## Testdurchführung

1. Testreagenzien und benötigte Anzahl an Kavitäten auf Raumtemperatur (RT) erwärmen und alle Reagenzien vor Gebrauch leicht schütteln, Schaumbildung vermeiden.
2. Je 100 µL  Positivkontrolle  
100 µL  Negativkontrolle  
100 µL verdünnte Stuhlprobe pipettieren.
3. Platte abkleben und 60 min bei RT inkubieren.
4. Dekantieren und 5-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
5. 3 Tropfen (oder 100 µL)  HRP-Konjugat pro Kavität hinzugeben.
6. Platte abkleben und 30 min bei RT inkubieren.
7. Dekantieren und 5-mal mit 300 µL verdünntem Waschpuffer waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
8. 3 Tropfen (oder 100 µL)  Substrat pro Kavität hinzugeben.
9. 10 min **lichtgeschützt** bei RT inkubieren.
10. 3 Tropfen (oder 100 µL)  Stopplösung pro Kavität hinzugeben, kurz schütteln.
11. Messen der OD bei 450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter mit einem Mikrotiterplatten-Photometer innerhalb von 30 min.

## Auswertung der Ergebnisse

### Qualitative Auswertung

Cut-off Bestimmung: OD Negativkontrolle + 0,10

Proben mit OD-Werten gleich dem oder oberhalb des errechneten Grenzwertes sind als positiv, Proben mit OD-Werten unterhalb des errechneten Grenzwertes sind als negativ für Norovirus-Antigene zu bewerten.

Der Test kann ausgewertet werden, wenn:

- OD-Mittelwert der Negativkontrolle  $\leq 0,20$  (manuelle Abarbeitung)  
 $\leq 0,30$  (automatische Abarbeitung)
- OD-Mittelwert der Positivkontrolle  $\geq 1,20$

erreicht.

Ist eines der oben genannten Gültigkeitskriterien nicht erfüllt, muss der Testansatz wiederholt werden. Die Abarbeitung muss gemäß Gebrauchsanleitung erfolgen (korrekte Reagenzienvorbereitung,

korrekte Inkubationszeiten und -temperaturen, sorgfältiges Waschen). Sollten die Gültigkeitskriterien auch nach wiederholtem Testansatz nicht erfüllt sein, kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

## Interpretation der Ergebnisse

Positiv	$\geq$ Cut-off
Negativ	$<$ Cut-off

Aufgrund von Unterschieden in der Patientenzusammensetzung wird empfohlen, dass jedes Labor eigene Referenzbereiche bestimmen sollte.

## Leistungsmerkmale

### Präzision

Zur Bestimmung der Präzision wurden 4 Proben mehrfach bestimmt. Für die Bestimmung des Intra-Assay-Variationskoeffizienten (VK) wurden die Proben in einer 8-fachen Bestimmung in einem Testlauf vermessen. Die Bestimmung des Inter-Assay-Variationskoeffizienten erfolgte durch eine 8-fach Bestimmung an 2 Tagen in 6 verschiedenen Testläufen.

Probe	Intra-Assay-Variationskoeffizient		Inter-Assay-Variationskoeffizient	
	$\bar{x}$ OD	VK (%)	$\bar{x}$ OD	VK (%)
1	2,132	2,0	1,924	7,6
2	0,902	3,9	0,813	3,2
3	0,534	3,3	0,562	3,7
4	0,217	5,9	0,247	2,8

### Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze des Serazym® Norovirus wurde mit  $< 10$  ng/mL Kapsidprotein bezogen auf Genogruppen I und II durch Titration rekombinanter Kapsidproteine bestimmt.

### Sensitivität und Spezifität

Sensitivität und Spezifität des Serazym® Norovirus wurden im Rahmen einer retrospektiven Studie anhand von 159 Stuhlproben im Vergleich zu einem kommerziell erhältlichen ELISA bestimmt:

	ELISA positiv	ELISA negativ
Serazym® ELISA positiv	111	3
Serazym® ELISA negativ	6	39

Sensitivität: 94,9 %

Spezifität: 92,9 %

### Kreuzreaktivität

Die Untersuchung von Stuhlproben mit einem positiven Erregernachweis der folgenden Spezies ergab keine falsch positiven Ergebnisse im Serazym® Norovirus:

Adenovirus, Astrovirus, Rotavirus, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* / *dispar*.

Negative Stuhlsuspensionen wurden mit folgenden Mikroorganismen mit einer Keimzahl von  $\geq 10^8$  Kolonie-bildenden Einheiten bzw. Viruspartikeln pro mL Stuhlsuspension aufgestockt und im Serazym® Norovirus negativ bewertet (450 nm Mess- und  $\geq 620$  nm Referenzfilter < Cut-Off):

Adenovirus	Typ 41	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966	<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
Astrovirus	Serotyp 4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 117788	Rotavirus	Stamm SA11
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633	<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>thyphimurium</i>	ATCC 14028
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>galolyticus</i>	ATCC 13076
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291	<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022
<i>Candida albicans</i>	klinisches Isolat	<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Clostridium sordelli</i>	ATCC 9714	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048	<i>Vibrio cholerae</i>	RV 2011/ST5
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9	klinisches Isolat
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	klinisches Isolat
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883		

### Interferenz

Die nachfolgend aufgelisteten Substanzen zeigten bei Zumischung zu positiven und negativen Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen keinen signifikanten Einfluss auf das Testergebnis: Bariumsulfat (5 %), Buscopan® (2 mg/mL), Cyclamat (5 %), Diclofenac (2 mg/mL), Hämoglobin human (5 mg/mL), Blut human (5 %), Hylak® N (5 %), Iberogast® (5 %), Immodium® akut duo (0,2/12,5 mg/mL), Loperamid (0,2 mg/mL), Metronidazol (2 mg/mL), Mucin (5 mg/mL), Nexium® (2 mg/mL), Palmitinsäure (20 %), Pentofuryl® (2 mg/mL), Pepto-Bismol (1 mg/mL), Perenterol (2,5 mg/mL), Rennie® (8 mg/mL), Simage® (2 mg/mL), Stearinsäure (20 %), Vancomycin (2 mg/mL).

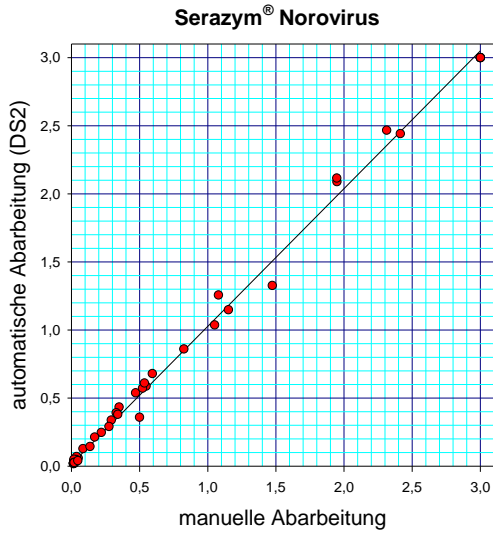
## Applikation

### Automatische Abarbeitung

Bei Abarbeitung des Serazym® Norovirus auf einem Mikrotiterplatten-Vollautomaten (z.B. DS2®, DSX®; Dynex Technologies) können in Abhängigkeit vom verwendeten Gerät und von den individuellen Geräteeinstellungen im Vergleich zur manuellen Bearbeitung höhere OD-Werte gemessen werden. In diesen Fällen ist die Erhöhung des maximal zulässigen Grenzwertes der Negativkontrolle auf OD = 0,3 zulässig. Für den Waschprozess ist die Programmierung von Waschpuffer-Einwirkzeiten (mindestens 10 s pro Streifen und Waschschrift) gefolgt von einem Waschschrift mit deionisiertem Wasser und 10 s Einwirkzeit zu empfehlen. Gegebenenfalls kann die Anzahl der Waschschriffe auf 7x bis 8x erhöht werden.

### Korrelation: manuelle – automatische Abarbeitung

Im Rahmen der Untersuchung von 90 Stuhlproben wurde bei parallel durchgeführter manueller und automatischer Abarbeitung (DS2<sup>®</sup>, Dynex Technologies) ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,999$  ermittelt.



## Änderungshistorie

Version	Abschnitt	Änderungen
2022-07_v01_DE_EN	Gesamtes Dokument	Aktualisierung der Zweckbestimmung Umstellung der Teilabschnitte Einfügen von Sicherheitshinweisen Wegfall Pipettierschema
2023-06_v02_de_en	Gesamtes Dokument	Aktualisierung Zweckbestimmung Aktualisierung Wichtige Informationen; Sicherheitshinweise Redaktionelle Änderungen

# Serazym<sup>®</sup> Norovirus

Enzyme immunoassay for the qualitative detection of capsid protein (VP1) of human pathogenic noroviruses of genogroups GI and GII in stool samples of human origin

<b>REF</b>	E-061		96
<b>REF</b>	E-061-A2		2x96
<b>IVD</b>	In-vitro-diagnostic medical device		<b>CE</b>

**Seramun Diagnostica GmbH** • Sprenhagener Str. 1 • 15754 Heidesee • Germany •  
 T +49 33767 791-10 • [info@seramun.com](mailto:info@seramun.com) • [www.seramun.com](http://www.seramun.com)

<b>IVD</b> In-vitro diagnostic medical device	<b>UDI</b> Unique device identifier	<b>Manufacturer</b>
Country of manufacture and date of manufacture	<b>REF</b> Article number	<b>SN</b> Serial number
Keep away from sunlight	Humidity limitation	<b>LOT</b> Batch code
Consult instructions for use	Temperature limit	Do not reuse
Sufficient for <i>n</i> tests	Biohazard	Use-by date
		Attention

## Intended Use

Serazym® Norovirus is an IVD test for the qualitative determination of capsid protein (VP1) of human-pathogenic noroviruses of genogroups GI and GII in stool samples of human origin by a laboratory professional user.

It is intended to aid in the diagnosis of norovirus-associated gastroenteritis in samples from patients with symptoms of gastroenteritis.

The test must not be used with specimen materials such as biopsy specimens, water, culture suspensions and materials other than stool samples of human origin, for diagnosis, screening, prediction, monitoring, prognosis, as a companion diagnostic, in the near-patient setting and by lay persons.

## Principle of the Test

Serazym® Norovirus is an enzyme immunoassay based on polyclonal antibodies against norovirus capsid protein VP1 of genotypes GI and GII. Diluted, untreated stool samples as well as negative and positive controls are dispensed into wells of the microtiter plate coated with polyclonal anti-norovirus antibodies. After incubation, the unbound components are removed by a washing step and peroxidase (HRP)-labeled polyclonal anti-Norovirus antibodies are dispensed into the wells. After incubation and a washing step, HRP converts the colorless substrate solution to a blue reaction product in the following enzymatic reaction step. The reaction is stopped by addition of the stop solution, resulting in a color change from blue to yellow. The optical density (OD) of the reaction product, measured at 450 nm measuring and  $\geq 620$  nm reference filter, respectively, is directly proportional to the concentration of the specifically bound norovirus antigen.

## Test Components (Delivery Scope)

		<b>For 96 wells</b>	<b>For 2x 96 wells</b>	
1	<b>WELLS</b>	Microtiter plate coated with polyclonal anti-norovirus antibodies (sheep)	12 single breakable 8-well strips, silver color marking, vacuum-sealed with desiccant	2x 12 single breakable 8-well strips, silver color marking, vacuum-sealed with desiccant
2	<b>WASHBUF (10x)</b>	<b>Wash buffer (10x)</b> Seramun® Wash buffer A TRIS-based buffer	100 mL concentrate for 1000 mL solution, white cap	2x 100 mL concentrate for 2x 1000 mL solution, white cap
3	<b>DIL</b>	<b>Sample diluent</b> Seramun® Sample diluent A Phosphate-based buffer	100 mL, ready to use, colored yellow black cap	2x 100 mL, ready to use, colored yellow black cap
4	<b>CONTROL +</b>	<b>Positive control</b> Recombinant norovirus capsid protein	2.0 mL, ready to use, colored blue, red cap	4.0 mL, ready to use, colored blue, red cap
5	<b>CONTROL -</b>	<b>Negative control</b> TRIS-based buffer	2.0 mL, ready to use, colored blue, green cap	4.0 mL, ready to use, colored blue, green cap
6	<b>CONJ HRP</b>	<b>HRP conjugate</b> HRP-labeled polyclonal anti-norovirus antibodies (sheep)	15 mL, ready to use, colored green, brown cap	25 mL, ready to use, colored green, brown cap

7	<b>SUBSTR</b>	<b>Substrate</b> SeramunBlau® automat fast < 0.1 % 3,3',5,5'- tetramethylbenzidine; < 0.05 % hydrogen peroxide	15 mL, ready to use, colorless, blue cap	28 mL, ready to use, colorless, blue cap
8	<b>STOP</b>	<b>Stop solution</b> SeramunBlau® stop 0.25 M sulphuric acid	15 mL, ready to use, colorless, yellow cap	28 mL, ready to use, colorless, yellow cap
9	<b>COVER</b>	<b>Covering film</b>	2 pieces	-
10		<b>Certificate of Analysis</b>	1 piece	1 piece
11		<b>Instructions for Use</b>	1 piece	1 piece

## Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Adjustable single-channel micropipette • 8-channel micropipette or multichannel micropipette with pipette tips • 8-channel wash comb with vacuum pump and waste bottle or microplate washer • microplate reader with 450 nm measuring filter and ≥ 620 nm reference filter • deionized water • measuring cylinder • tubes for sample preparation

## Important Information



**This device is for *in-vitro* diagnostic use only.** Follow the instructions carefully. The kit may be performed by health professionals only.

Do not use reagents from damaged packages or bottles. The shelf life specified must be observed. Do not mix components with reagents from other manufacturers.

**Mixing of test kit components of different lots is only allowed for sample diluent, wash buffer, substrate and stop solution.**

**Sample diluent, wash buffer, substrate and stop solution are universally applicable for Serazym® stool ELISA Adenovirus (E-017), Rotavirus (E-020), Astrovirus (E-045), Clostridium difficile Toxin A+B (E-040), Clostridium difficile GDH (E-107), Campylobacter (E-093), Entamoeba histolytica (E-018), Cryptosporidium parvum (E-039), Giardia (E-106) and H. pylori 2nd Gen. (E-114).**

All serious incidents occurring in relation with Serazym® Norovirus must be reported to the manufacturer and the competent authority of the EU member state in which user and/or patient are located.

### Information on Assay Procedure

All reagents should be stored at 2...8 °C. Bring all test components to room temperature before use. Reagents that appear contaminated should not be used.

Each well of a microtiter plate can be used once only. Each sample and control have to be pipetted with a new pipette tip. Positive and negative control are ready to use.



For larger sample series, pipetting reagents from liquid reservoirs using a multichannel micropipette is recommended to avoid time delays and contaminations. Follow the pipetting scheme and time schedules of the protocol.

The aspiration and washing steps can be performed manually or with the help of a microplate washer or waterjet pump. Wash solution should be allowed a minimum reaction time of 5 s in the wells per wash cycle. Remove wash buffer residues by thoroughly aspirating or tapping out the wells!  
Protect substrate from light!

## Safety Instructions

Reagents must not be swallowed. Contact with skin or mucous membranes should be avoided. Handle all components and patient samples as if potentially hazardous and infectious. Additional information may be taken from the Material Safety Data Sheet.

Product contains the following hazardous component/-s:

Test component	Hazard labeling and supplementary information on ingredients
WELLS	Contains material of animal origin.
WASHBUF (10x)	<p>EUH208: Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May produce an allergic reaction.</p> <p>EUH210: Safety data sheet available on request.</p> <p>Preservatives: &lt; 0.0015 % reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1); &lt; 0.1 % 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane</p>
DIL	<p>Contains material of animal origin.</p> <p>Preservatives: &lt; 0.1 % sodium azide</p>
CONTROL +	<p>Contains material of microbial and animal origin.</p> <p>Preservatives: &lt; 0.1 % sodium azide</p>
CONTROL -	<p>Contains material of animal origin.</p> <p>Preservatives: &lt; 0.01 % sodium azide</p>
CONJ HRP	<p>EUH210: Safety data sheet available on request.</p> <p>Contains material of animal origin.</p> <p>Preservative: &lt; 0.01 % 5-bromo-5-nitro-1,3-dioxane</p>
SUBSTR	<p>Hazard component: 2-Pyrrolidone</p> <p>Signal word: Danger</p>  <p>H319: Causes serious eye irritation.</p> <p>H360: May damage fertility or the unborn child.</p> <p>P201: Obtain special instructions before use.</p> <p>P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.</p> <p>P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.</p> <p>P308+P313: IF exposed or concerned: Get medical advice/attention.</p> <p>Restricted to professional users.</p> <p>Preservatives: &lt; 0.00015 % reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1)</p>
STOP	<p>Hazard component: Sulphuric acid 2.5 %</p> <p>Signal word: Warning</p>  <p>H290: May be corrosive to metals.</p>

## Limitations of the Procedure

The qualitative enzyme immunological detection of norovirus antigens in stool samples does not allow correlation between the measured OD and the severity of infection. Also, it is not allowed to correlate absorbances of samples with the absorbance of the positive control.

Cross contamination of reagents and samples may result in false positive results. Incorrect dilutions, insufficiently homogenized samples, and particles not sedimented by centrifugation may cause false positive as well as false negative test results. A negative test result obtained with Serazym® Norovirus does not exclude an infection. False negative tests may result from improper timing of sample collection or inhomogeneous antigen distribution in the sample. The overall interpretation of the ELISA test result should consider the full clinical picture. Individual cases may require retesting at intervals of several weeks.

## Sample Treatment

### Sample Collection

Collect stool sample in suitable sampling container.

### Sample Shelf Life and Storage

Stool samples should be stored at 2...8 °C immediately after collection and examined within 72 h or stored frozen at -20 °C. Repeated freezing (> 3x) and thawing of samples should be avoided due to the risk of incorrect results. Stool samples that have already been diluted in Seramun® Sample diluent A according to the instructions for use can be stored at 2...8 °C for up to 72 h and subsequently analyzed by ELISA.

### Sample Preparation

Mix untreated stool samples well and dilute 1 : 6 with sample buffer.

Pipette 500 µL sample buffer into a reaction tube. For solid or semi-solid stool samples transfer 100 mg (approx. 2 – 3 mm diameter) with a disposable stick, for liquid stool samples transfer 100 µL into the sample buffer and mix thoroughly. If necessary, sediment suspended particles by centrifugation in a microcentrifuge for 1 min at maximum speed.

## Reagent Treatment

### Reagent Shelf Life and Storage

The complete test kit with sealed reagent bottles and microtitration strips can be stored at 2...8 °C until the printed expiration date. All opened test kit components are stable for up to 2 months when stored properly at 2...8 °C. The diluted wash buffer can be stored at 2...8 °C for up to 1 month.

### Reagent Preparation

Microtiter plate with breakable 8-well strips vacuum sealed with desiccant. Allow packaging to reach room temperature before opening. Protect unused wells from moisture and store refrigerated with desiccant in the original bag carefully resealed. Dilute wash buffer (10x) 1 : 10 with deionized water.

Example: 10 mL wash buffer (10x) + 90 mL deionized water.

## Assay Procedure

1. Allow test reagents and required number of wells to reach room temperature (RT). Shake reagents gently before use. Avoid foaming.
2. Pipette 100 µL **CONTROL +** Positive control  
100 µL **CONTROL -** Negative control  
100 µL diluted stool specimen each.
3. Cover the plate and incubate for 60 min at RT.
4. Decant, then wash each well 5x with 300 µL diluted wash buffer. Tap dry onto absorbent paper if necessary.
5. Add 3 drops (or 100 µL) **CONJ HRP** HRP conjugate per well.
6. Cover plate and incubate for 30 min at RT.
7. Decant, then wash each well 5x with 300 µL diluted wash buffer. Tap dry onto absorbent paper if necessary.
8. Add 3 drops (or 100 µL) **SUBSTR** substrate per well.
9. Incubate for 10 min at RT **protected from light**.
10. Add 3 drops (or 100 µL) **STOP** stop solution per well, mix gently.
11. Read OD at 450 nm and  $\geq 620$  nm with a microplate reader within 30 min following reaction stop.

## Evaluation of Results

### Qualitative Evaluation

Cut-off determination: OD negative control + 0.10

Samples showing OD values equal with or higher than the cut-off are considered positive, samples with OD values below cut-off are considered negative for norovirus antigens.

The test run is valid, if:

- mean OD of the negative control is  $\leq 0.20$  (manual processing)  
 $\leq 0.30$  (automatic processing)
- mean OD of the positive control is  $\geq 1.20$

If one of the above-mentioned quality criteria is not met, test should be repeated strictly following the test procedure (incubation times and temperatures, sample and wash buffer dilution, wash steps, etc.). In case of repeated failure of the quality criteria contact the manufacturer.

## Interpretation of Results

Positive	$\geq$ cut-off
Negative	$<$ cut-off

It is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological reference ranges.

## Performance Characteristics

### Precision

To determine precision, 4 samples were measured multiple times. For the determination of the intra-assay coefficient of variation (CV), the samples were measured in an 8-fold determination in one test run. The determination of the inter-assay coefficient of variation was done by an 8-fold determination on 2 days in six different test runs.

Sample	Intra-assay coefficient of variation		Inter-assay coefficient of variation	
	$\bar{x}$ OD	CV (%)	$\bar{x}$ OD	CV (%)
1	2.132	2.0	1.924	7.6
2	0.902	3.9	0.813	3.2
3	0.534	3.3	0.562	3.7
4	0.217	5.9	0.247	2.8

### Detection Limit

The lower detection limit of the Serazym® Norovirus has been determined at < 10 ng/mL capsid protein for genogroups I and II.

### Sensitivity and Specificity

Sensitivity and specificity of Serazym® Norovirus have been determined in a retrospective study with 159 stool specimens in comparison to a commercially available ELISA.

	ELISA positive	ELISA negative
<b>Serazym® ELISA positive</b>	111	3
<b>Serazym® ELISA negative</b>	6	39

Sensitivity: 94.9 %

Specificity: 92.9 %

## Cross reactivity

Stool samples positive for one of the following pathogens did not show any cross reaction with Serazym® Norovirus:

Adenovirus, astrovirus, rotavirus, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica* / *dispar*.

Negative stool suspensions were spiked with the following microorganisms with a bacterial count of  $\geq 10^6$  colony-forming units per mL in sample buffer and tested negative in the Serazym® Norovirus (450 nm measurement and  $\geq 620$  nm reference filter < cut-off):

Adenovirus	Typ 41
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ATCC 7966
Astrovirus	serotype 4
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 117788
<i>Bacillus subtilis</i>	ATCC 6633
<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285
<i>Campylobacter jejuni</i>	ATCC 33291
<i>Candida albicans</i>	clinical isolate
<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090
<i>Clostridium sordelli</i>	ATCC 9714
<i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 13048
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC 13047
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Klebsiella pneumonia</i>	ATCC 13883

<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	ATCC 27337
<i>Proteus vulgaris</i>	ATCC 8427
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 10145
Rotavirus	strain SA11
<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>thyphimurium</i>	ATCC 14028
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>Galolyticus</i>	ATCC 13076
<i>Shigella flexneri</i>	ATCC 12022
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC 25931
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 12228
<i>Vibrio cholerae</i>	RV 2011/ST5
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	ATCC 17802
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:9	clinical isolate
<i>Yersinia enterocolitica</i> O:3	clinical isolate

## Interference

None of the following substances in the indicated concentrations added to norovirus positive and negative stool samples did show a significant impact on the test result:

Barium sulfate (5 %), Buscopan® (2 mg/mL), Cyclamate (5 %), Diclofenac (2 mg / mL), human hemoglobin (5 mg/mL), human blood (5 %), Hylak® N (5 %), Iberogast® (5 %), Immodium® akut duo (0.2/12.5 mg/mL), Loperamide (0.2 mg/mL), Metronidazole (2 mg/mL), Mucin (5 mg/mL), Nexium® (2 mg/mL), palmitic acid (20 %), Pentofuryl® (2 mg/mL), Pepto-Bismol (1 mg/mL), Perenterol (2.5 mg/mL), Rennie® (8 mg/mL), Simage® (2 mg/mL), stearic acid (20 %), Vancomycin (2 mg/mL).

## Application

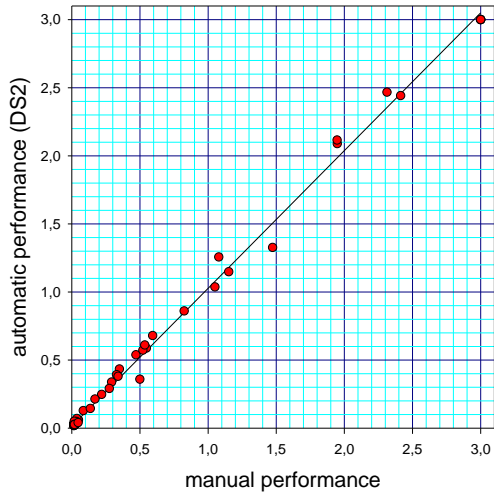
### Automatic processing

Performing Serazym® Norovirus on fully automated microplate processors (e.g. DS2®, DSX®; Dynex Technologies) may cause elevated absorbance values in comparison to the manual procedure caused by differences in the wash procedures and technical specifications of the equipment. In these cases, a maximum value of OD = 0.3 is permissible for the negative control. It is recommended to program a wash protocol with 10 s soak time per strip and wash step. A final wash step with deionized water and a soak time of 10 s is recommended after each wash cycle. If necessary, the number of washing steps may be increased to 7x or 8x.

**Correlation: manual – automatic processing**

A panel of 90 stool specimens was processed manually and automatically in parallel (DS2®, Dynex Technologies). The correlation coefficient was calculated at  $r = 0.999$ .

**Serazym® Norovirus**



## Change History

Version	Section	Modifications
2022-07_v01_DE_EN	Entire document	Updating of the intended use Conversion of subsections Insertion of safety instructions Removal of pipetting scheme
2023-06_v02_de_en	Entire document	Updating Intended Use Updating Important Information; Safety Instructions Editorial changes

## References

1. Hansman, G.S. et al. (2006): "Genetic and antigenic diversity among noroviruses". *Journal of General Virology* **87**: 909-919.
2. [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber\\_Noroviren.html](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Noroviren.html)
3. Künkel, U. and Schreier, E. (2002): "Caliciviren Virale Auslöser akuter Gastroenteritiden: Virale Auslöser akuter Gastroenteritiden". *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitschutz* **45**(7): 534-542.
4. Lindesmith, L.C. et al. (2008): "Mechanisms of GII.4 Norovirus Persistence in Human Populations". *PLoS Medicine* **5**(2): 269-290.
5. Marshall, J.A. and Bruggink, L.D. (2006): "Laboratory Diagnosis of Norovirus". *Clin Lab* **52**(11-12): 571-581
6. Prasad, B.V.V. et al. (1999): "X-ray Crystallographic Structure of the Norwalk Virus Capsid". *Science* **286**: 287-290.
7. Shiota, T. et al. (2007): "Characterization of a Broadly Reactive Monoclonal Antibody against Norovirus Genogroups I and II: Recognition of a Novel Conformational Epitope". *Journal of Virology* **81**(22): 12298-12306.