



# Seraline<sup>®</sup> Anti-Yersinia-6 IgG




## Seraline<sup>®</sup> Anti-Yersinia-6 IgA

Line Immunoassay zum qualitativen Nachweis von IgG- oder IgA-Antikörpern gegen 6 *Yersinia enterocolitica*-spezifische Antigene in Serum oder Plasma humanen Ursprungs

<b>REF</b>	LIA-005-6 A		20
<b>REF</b>	LIA-005-6 G		20
<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 n Prüfungen	 Biologisches Risiko	 Temperaturbereich
		 Achtung

## Zweckbestimmung

Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG und Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA sind IVD-Teste zur qualitativen Bestimmung von Antikörpern des IgG- bzw. IgA Isotyps gegen *Yersinia enterocolitica*-spezifische Antigene Yop (*Yersinia outer protein*) B, Yop D, Yop E, Yop H, Yop M und Yop N in Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs durch einen Fachanwender in Laborumgebung.

Die Teste können angewendet werden in Kombination mit dem Zubehör Seraline®scan (Software).

Sie dienen dem Screening und als Bestätigungsteste der Diagnosehilfe einer Yersiniose in Proben von Patienten mit Verdacht auf eine *Yersinia enterocolitica*-Infektion.

Die Teste dürfen nicht verwendet werden mit anderen Probenmaterialien als Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs zu Überwachung, Diagnose, Vorhersage, Prognose, als therapiebegleitendes Diagnostikum, in patientennahe Umgebung und durch Laienanwender.

## Testprinzip

Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG und Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA Teste sind Line Immunoassays (Membranimmunassays).

### Die Reaktion zum Nachweis der spezifischen Antikörper erfolgt in 3 Schritten:

#### Schritt 1

Inkubation der zu untersuchenden Proben zusammen mit Teststreifen bei Raumtemperatur für 45 min in einer Verdünnung von 1 : 101. Entfernung der nicht gebundenen Probenbestandteile durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer (WIB).

#### Schritt 2

Inkubation der Teststreifen für 45 min bei Raumtemperatur mit HRP-markierten Konjugatantikörpern. Entfernung der nicht gebundenen Konjugatantikörper durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit verdünntem WIB.

#### Schritt 3

Inkubation der Teststreifen bei Raumtemperatur für 10 min mit Substrat. Die gebundenen HRP-Moleküle des Konjugats setzen das Substrat unter Ausbildung blauer Präzipitate um.

Stoppen der Reaktion durch Absaugen und 3-maliges Waschen der Teststreifen mit deionisiertem Wasser. Entfernung der Restflüssigkeit durch Trocknen der Teststreifen zwischen Filterpapier. Die Färbung der entwickelten Streifen ist bei dunkler Lagerung stabil.

Kleben der entwickelten Teststreifen auf das Auswertetemplate. Dabei die Funktionskontrolle der Teststreifen exakt auf die im Auswertetemplate vorgedruckte Trennlinie legen.

Identifizierung der gefärbten Antigenbanden auf den getrockneten Teststreifen durch Anlegen der Auswerteschablone. Bestimmung des Testergebnisses entsprechend den Auswertekriterien und Dokumentation der identifizierten Banden im Auswertetemplate.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

## Testkomponenten (Lieferumfang)

Für 20 Bestimmungen:

1	TESTSTR	<b>Teststreifen mit Auswerteschablone</b> Spezifische Antigene auf Nitrozellulose-Membran (s. verwendete Antigene)	<b>20 Streifen</b> Farbmarkierung: hellblau in einem Faltheft im Druckverschlussbeutel
2	WIB (5x)	<b>Wasch- und Inkubationspuffer (5x)</b> Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Wässrige Pufferlösung	<b>70 mL Konzentrat</b> für 350 mL verdünnte Lösung, farblos, schwarze Kappe
3	CONJ HRP IgG oder CONJ HRP IgA	<b>Anti-human IgG -HRP-Konjugat</b> anti-human IgG-HRP oder <b>Anti-human IgA -HRP-Konjugat</b> anti-human IgA-HRP	<b>35 mL</b> gebrauchsfertig <b>IgG:</b> rot gefärbt, rote Kappe <b>IgA:</b> violett gefärbt, violette Kappe
4	SUBSTR	<b>Substrat</b> SeramunBlau® prec <0,1 % 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin	<b>35 mL</b> gebrauchsfertig, farblos-hellgelb, blaue Kappe
5	INCUTRAY	<b>Inkubationswanne mit Deckel</b>	2 Stück
6	TEMPLATE	<b>Auswertetemplate</b>	1 Stück
7		<b>Analysenzertifikat</b>	1 Stück
8		<b>Gebrauchsanleitung</b>	1 Stück

## Verwendete Antigene

Bezeichnung	Charakterisierung*		Vorkommen
Yop B	42 kDa	Bestandteil des Translokons	<i>Yersinia</i> outer proteins (Yop) sind Struktur- und Effektorproteine des Typ III Sekretionssystems humanpathogener <i>Yersinia</i> Spezies.  Alle aufgeführten Yop sind hochspezifisch für humanpathogene <i>Yersinia</i> Spezies.
Yop D	36 kDa	Bestandteil des Translokons, Regulation der Yop-Expression	
Yop E	27 kDa	Phagozytose-Hemmung	
Yop H	48 kDa	Phagozytose-Hemmung	
Yop M	45 kDa	Aktivierung eukaryontischer Kinasen	
Yop N	34 kDa	Regulation der Yop-Freisetzung	

\* Das Molekulargewicht (MW) wird in der Literatur nicht einheitlich wiedergegeben.

## Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Einkanal-Mikropipette und Pipettenspitzen für 15 µL und 1500 µL • Kunststoffpinzette • Messzylinder und Bechergläser • Teströhrchen für die Probenverdünnung • Wipp-Schüttler • Filterpapier • Klebestift • Absaugsystem mit Auffanggefäß für infektiöse Lösungen • deionisiertes Wasser • Stoppuhr

Optional:

Flachbettscanner • Evaluierungssoftware Seraline®scan • automatisches Bearbeitungsgerät

## 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 und 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 Wasch- und Inkubationspuffer (5x) und Substrat erlaubt.**

Alle im Zusammenhang mit Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG oder Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA auftretenden schwerwiegenden Vorkommnisse sind dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen sind, zu melden.

### Arbeitsplatzanforderungen:

Für die Durchführung von Line Immunoassays wird ein sauberer und faserfreier Arbeitsplatz benötigt. An den Teststeifen anheftende Fasern führen zu fehlerhaften Resultaten. Arbeitsplatz und Kit-Komponenten sollten nicht direktem Sonnenlicht ausgesetzt sein.

### Hinweise zur Testdurchführung:

Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8 °C. Alle Testkomponenten vor Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen.

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und die Dauer der Wasch- und Inkubationsschritte sind einzuhalten.

Blasenbildung beim Pipettieren vermeiden, dies führt zu Auswertungsfehlern.

### Sicherheitshinweise

Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Schleimhäuten vermeiden.

Einige Reagenzien können Biozide als Konservierungsmittel enthalten.

Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit den Patientenproben 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.

TESTSTR	-	Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
WIB (5x)	EUH208 EUH210	Enthält Reaktionsmasse aus 5-Chlor-2-methyl-2H-isothiazol-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen. Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen Ursprungs.
CONJ HRP	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. Enthält Material tierischen und mikrobiologischen Ursprungs.
SUBSTR	EUH210	Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich.

### Grenzen der Methode

Eine Interpretation des Ergebnisses soll nur in enger Verbindung mit klinischen Befunden erfolgen. Im Einzelfall können Wiederholungsuntersuchungen in mehrwöchigem Abstand hilfreich sein. In einer frühen Infektionsphase ist es möglich, dass Antikörper noch nicht oder nur in nicht nachweisbaren Mengen vorhanden sind. Kontaminationen der Reagenzien oder der Proben durch Bakterien oder Pilze können zu inkorrekten Ergebnissen führen.

Die Verwendung von kontaminierten Proben kann die Hintergrundfärbung der Streifen erhöhen und darüber hinaus zu falschen Ergebnissen führen.

In Ausnahmefällen, z. B. Hypergammaglobulinämien, dem Vorhandensein von zirkulierenden Immunkomplexen oder Milcheiweiß-Antikörpern, kann sich der Hintergrund der Streifen sehr schnell blau färben. In solchen Fällen ist die Farbreaktion vorzeitig durch 3-maliges Spülen mit deionisiertem Wasser zu stoppen.

### Behandlung der Proben

#### Probennahme

Serum oder Plasma (Citrat, EDTA, Heparin) humanen Ursprungs in geeignetem Gefäß sammeln.

#### Probenhaltbarkeit und -lagerung

Serum oder Plasma humanen Ursprungs maximal 48 Stunden bei 2...8 °C lagern. Bei längerer Aufbewahrung sind die Proben bei < -15 °C zu lagern. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden.

Es ist zu beachten, dass Antikörper in Verdünnungen evtl. nicht stabil sind, was zu einem Aktivitätsverlust führen kann. Aus diesem Grund sollte eine notwendige Nachuntersuchung in einer höheren Verdünnung am selben Tag durchgeführt werden.

#### Probenvorbereitung

##### *Serum/Plasma:*

Vor der Verwendung die Proben auf RT erwärmen. Grundsätzlich sollte durch kurzes Aufschütteln die Homogenität gesichert werden.

Serum- oder Plasmaproben 1 : 101 (v/v) (15 µL Probe und 1500 µL verdünnter Wasch- und Inkubationspuffer (hergestellt aus WIB (5x)) in der Inkubationswanne verdünnen.

## Behandlung der Reagenzien

### Reagenzienhaltbarkeit und -lagerung

Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzienflaschen und Teststreifen ist bei Lagerung bei 2...8 °C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8 °C bis zu 2 Monate haltbar. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist bei 2...8 °C bis zu 1 Monat verwendbar.

### Reagenzienvorbereitung

Vor dem Testansatz sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu erwärmen. Nicht benötigte Teststreifen in den Beutel zurücklegen und verschließen.

**Wasch- und Inkubationspuffer WIB (5x)** 1 : 5 (v/v) mit deionisiertem Wasser verdünnen.

Beispiel: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionisiertes Wasser. Der verdünnte Wasch- und Inkubationspuffer ist vor Verwendung gründlich zu durchmischen, Schaumbildung vermeiden!

Das **Substrat** ist vor direktem Lichteinfall zu schützen.

## Testdurchführung

Die Durchführung erfolgt bei Raumtemperatur (RT, 18...25 °C). Alle gebrauchsfertigen Testreagenzien und der verdünnte Waschpuffer **auf Raumtemperatur erwärmen**.

Teststreifen mit einer Kunststoffpinzette so in die Inkubationswanne legen, dass die aufgedruckten Nummern nach oben zeigen.

Alle Inkubationsschritte sollten auf einem Wipp-Schüttler mit einer empfohlenen Schüttelfrequenz von 20 bis 30 Rotationen pro Minute erfolgen.

Die Reihenfolge der Pipettierschritte und deren Durchführung im Zeittakt sind einzuhalten.

1. Teststreifen **TESTSTR** mit **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer **5 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
2. **15 µL** Probe zugeben.
3. Wanne mit Deckel **INCUTRAY** abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
4. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
5. **1,5 mL** Konjugat **CONJ HRP IgG** oder **CONJ HRP IgA** zugeben.
6. Wanne mit Deckel abdecken und **45 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
7. Lösungen absaugen und Teststreifen **3x 5 min** mit jeweils **1,5 mL** verdünntem Wasch- und Inkubationspuffer waschen.
8. Teststreifen mit **1,5 mL** **SUBSTR** **10 min** auf Wipp-Schüttler inkubieren.
9. Substrat absaugen und Teststreifen **3x** mit **1,5 mL** deionisiertem Wasser spülen.
10. Die Teststreifen nach dem Abstoppen zwischen Filterpapier **trocknen** und anschließend auswerten.

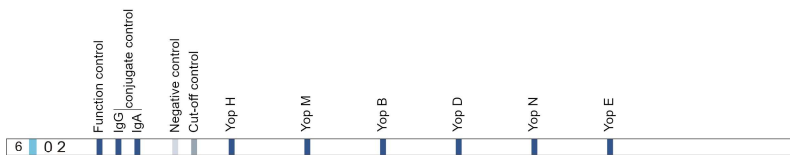
## Auswertung der Ergebnisse

### Gültigkeitskriterien für den Test

Auf jedem Teststreifen Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG und Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA sind 5 Kontrollbanden aufgetragen:

1. Die Funktionskontrolle muss sichtbar sein.
2. Die Konjugatkontrollen IgG bzw. IgA müssen sichtbar sein (positive Bande jeweils nur mit dem eingesetzten Konjugat anti-human IgG-HRP oder anti-human IgA-HRP).  
**Achtung:** Die jeweils andere Konjugatkontrolle kann in Abhängigkeit von der Probe auch eine blasse, unspezifische Bande zeigen.
3. Die Intensität der Negativkontrolle muss kleiner als die der Cut-off Kontrolle sein.
4. Die Cut-off Kontrolle muss sichtbar sein (Bandenintensität dient der Bewertung der diagnostischen Banden als positiv oder negativ).

Der Test kann ausgewertet werden, wenn die Funktionskontrolle, die erwartete Konjugatkontrolle und die Cut-off Kontrolle sichtbar sind.



Sind die 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, ist der Hersteller zu kontaktieren.

Die Testauswertung nur an trockenen Streifen durchführen. Die Teststreifen vor direktem Sonnenlicht schützen. Die Zuordnung der Banden mit Hilfe der beiliegenden Auswerteschablone durchführen. Die identifizierten Banden im Auswertetemplate dokumentieren.

Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und automatische Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.

## Interpretation der Ergebnisse

Es werden nur Banden als positiv bewertet, die eine Intensität  $\geq$  der Cut-off Kontrolle zeigen.

Bewertung	Bewertungskriterium IgG	Bewertungskriterium IgA
<b>Positiv</b>	Yop D > Cut-off Kontrolle <b>oder</b> 2 Banden	Yop D <b>oder</b> 2 Banden
<b>Grenzwertig</b>	Yop D = Cut-off Kontrolle <b>oder</b> 1 Bande	1 Bande <b>außer</b> Yop D
<b>Negativ</b>	Farbintensität der Banden < Cut-off Kontrolle	Farbintensität der Banden < Cut-off Kontrolle

## Leistungsmerkmale

### Interferierende Substanzen

Alle getesteten Substanzen haben keine signifikanten Auswirkungen auf die Testergebnisse, wenn sie in stark erhöhten Konzentrationen im Serum vorhanden sind: Bilirubin C und F (Simulation ikterischer Proben) je 20 mg/dL, Hämoglobin (Simulation hämolytischer Proben) 500 mg/dL, Lipide (Triglyceride) (Simulation lipämischer Proben) 1000 mg/dL und Rheumafaktor 500 IU/mL.

### Diagnostische Sensitivität

Zur Bestimmung der diagnostischen Sensitivität wurden n = 150 vorcharakterisierte Proben untersucht. Die diagnostische Sensitivität wurde im Vergleich zu Referenztesten im Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG und Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA bestimmt. Grenzwertige Proben wurden positiv bewertet.

n = 150		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
<b>Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG</b>	positiv	130	0	0
	grenzwertig	7	0	2
	negativ	3	0	8
Proben gesamt		140	0	10

Diagnostische Sensitivität: 97,9 %

n = 150		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
<b>Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA</b>	positiv	71	2	5
	grenzwertig	4	1	4
	negativ	7	3	53
Proben gesamt		82	6	62

Diagnostische Sensitivität: 88,6 %

### Diagnostische Spezifität

Zur Bestimmung der diagnostischen Spezifität wurden n = 100 Blutspenderseren untersucht. Die diagnostische Spezifität wurde im Vergleich zu Referenztesten im Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG und Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA bestimmt.

n = 100		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
<b>Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG</b>	positiv	25	0	1
	grenzwertig	3	3	6
	negativ	4	6	52
Proben gesamt		32	9	59

Diagnostische Spezifität: 88,1 %

n = 100		Referenztest		
		positiv	grenzwertig	negativ
<b>Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA</b>	positiv	9	0	0
	grenzwertig	1	0	6
	negativ	5	2	77
Proben gesamt		15	2	83

Diagnostische Spezifität: 92,8 %



## Applikation

### Software gestützte Auswertung

Die Auswertung erfolgt visuell mittels einer beiliegenden Schablone. Alternativ ist eine Bildaufnahme mit einem herkömmlichen Flachbettscanner und die Auswertung mit der Evaluierungssoftware Seraline®scan möglich.



## Änderungshistorie

Version	Abschnitt	Änderungen
2022-11_v01_DE_EN	Gesamtes Dokument	Aktualisierung der Zweckbestimmung Umstellung der Teilabschnitt Einfügen der Sicherheitshinweise Diagnostische Sensitivität IgG Rechenwert berichtigt
















# Seraline<sup>®</sup> Anti-Yersinia-6 IgG

# Seraline<sup>®</sup> Anti-Yersinia-6 IgA

Line Immunoassay for the qualitative detection of IgG or IgA antibodies directed against 6 *Yersinia enterocolitica*-specific antigens in serum or plasma of human origin

<b>REF</b>	LIA-005-6 A		20
<b>REF</b>	LIA-005-6 G		20
<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)

 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	 Do not reuse
 Consult instructions for use	 Temperature limit	 Use-by date
 Sufficient for <i>n</i> tests	 Biohazard	 Attention

## Intended Use

Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG and Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA are IVD assays for the qualitative determination of antibodies of the IgG or IgA isotype against *Yersinia enterocolitica*-specific antigens Yop (*Yersinia* outer protein) B, Yop D, Yop E, Yop H, Yop M, und Yop N in serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin by a laboratory professional user.

The tests can be used in combination with accessory Seraline®scan (Software).

They are used for screening and as a confirmatory test to aid in the diagnosis of Yersiniosis in samples from patients with suspected *Yersinia enterocolitica* infection.

The tests must not be used with specimen materials other than serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin, for monitoring, diagnosis, prediction, prognosis, as companion diagnostic, in the near-patient setting and by lay persons.

## Principle of the Test

Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG and Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA tests are line immunoassays (membrane-based immunoassays).

**Detection of specific antibodies is performed in 3 steps:**

### Step 1

Incubation of 1 : 101 diluted samples and test strips for 45 min at room temperature. After incubation samples are aspirated and unbound components are removed by 3 wash cycles with diluted wash and incubation buffer (WIB).

### Step 2

Incubation of test strips with HRP-labeled conjugate antibodies for 45 min at room temperature. Removal of unbound conjugate antibodies by aspiration and 3 wash cycles with WIB.

### Step 3

Incubation of test strips with substrate for 10 min at room temperature. The reaction is stopped by aspiration and 3 wash cycles with deionized water. Removal of residual liquid by drying the test strips between filter paper. The coloration of the developed strips is stable when stored in the dark.

Fixation of the developed test strips on the evaluation template. When doing so, placement of the functional control of the test strips exactly on the separating line pre-printed in the evaluation template. Identification of the stained antigen bands on the dried test strips with help of the evaluation template. Determination of the test result according to the evaluation criteria and documentation of the identified bands in the evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with software Seraline®scan is possible.

## Test Components (Delivery Scope)

		For 20 determinations
1	<b>TESTSTR</b>	<b>Test strips with evaluation template</b> Specific antigens on nitrocellulose membrane (see antigens used)
		<b>20 strips</b> color coding: light blue in a folding booklet in a pressure seal bag
2	<b>WIB (5x)</b>	<b>Wash and incubation buffer (5x)</b> Seramun® Wash and incubation buffer (5x) Aqueous buffer
		<b>70 mL concentrate</b> for 350 mL diluted buffer, colorless, black cap
3	<b>CONJ HRP IgG</b> or <b>CONJ HRP IgA</b>	<b>Anti-human IgG-HRP-Conjugate</b> anti-human IgG -HRP or <b>Anti-human IgA-HRP-Conjugate</b> anti-human IgA -HRP
		<b>35 mL IgG:</b> ready-to-use solution, colored red, red cap <b>IgA:</b> ready-to-use solution, colored purple, purple cap
4	<b>SUBSTR</b>	<b>Substrate</b> SeramunBlau® prec <0.1 % 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine
		<b>35 mL</b> ready-to-use solution, colorless-pale yellow, blue cap
5	<b>INCUTRAY</b>	<b>Incubation tray with cover</b>
		2 pieces
6	<b>TEMPLATE</b>	<b>Evaluation template</b>
		1 piece
7		<b>Certificate of Analysis</b>
		1 piece
8		<b>Instructions for Use</b>
		1 piece

## Antigens Used

Name	Description*	Incidence
Yop B	42 kDa Part of the translocon	<p><i>Yersinia</i> outer proteins (Yop) are structure and effector proteins of the type III secretion system of human pathogenic <i>Yersinia</i> species.</p> <p>All Yops listed are highly specific for human pathogenic <i>Yersinia</i> species.</p>
Yop D	36 kDa Part of the translocon, Regulation of Yop expression	
Yop E	27 kDa Inhibition of phagocytosis	
Yop H	48 kDa Inhibition of phagocytosis	
Yop M	45 kDa Activation of eukaryotic kinases	
Yop N	34 kDa Regulation of Yop release	

\* Molecular weight (MW) is not consistently reported in the literature.

## Additional Materials and Aids Required for the Test Procedure

Single-channel micropipette and pipette tips for 15 µL and 1500 µL • plastic tweezers • graduated cylinders and beakers • test tubes for sample dilution • rocking shaker • filter paper • glue stick • aspiration system with collection vessel for infectious solutions • deionized water • stopwatch

Optional:

Flatbed scanner • evaluation software Seraline® scan • automatic processing device

## Important Information



**This device is for *in vitro* diagnostic use only.** The kit may be performed by trained laboratory personnel only.

Follow the instructions for use carefully.

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

**Mixing of test kit components of different lots is only allowed for wash and incubation buffer (5x) and substrate.**

All serious incidents occurring in relation with Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG or Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA must be reported to the manufacturer and the competent authority of the EU member state in which the user and/or the patient are located.

### Workplace Requirements

A clean and fiber-free workspace is required to perform line immunoassays. Particles or fibers which may adhere to the test strips can lead to erroneous results. The workstation and kit components should not be exposed to direct sunlight.

### Information on Assay Procedure

All reagents should be stored at 2...8 °C. Bring all components to room temperature before use.

Store substrate protected from light!

The order of the pipetting steps and duration of the wash and incubation steps must be observed. Avoid bubble formation during pipetting, this will lead to evaluation errors.

### Safety Instructions

Reagents must not be swallowed. Contact with skin or mucous membranes should be avoided.

Some reagents may contain biocides as preservative.

Handle all components and patient samples as if potentially hazardous and infectious.

Additional information may be taken from the Material Safety Data Sheet.

The product contains the following hazard component/-s.

TESTSTR	-	Contains material of animal and microbiological origin.
WIB (5x)	EUH208	Contains reaction mass of 5-chloro-2-methyl-2H-isothiazol-3-one and 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). May cause allergic reactions.
	EUH210	Safety data sheet available on request.
		Contains material of animal origin
CONJ HRP	EUH210	Safety data sheet available on request.
		Contains material of animal and microbiological origin.
SUBSTR	EUH210	Safety data sheet available on request.

### Limitations of the Procedure

Result interpretation should always consider clinical findings. Individual cases may require repeated investigations of samples taken at intervals of several weeks. In an early stage of infection antibodies may not be present yet or below detection limit.

Impurities and cross contamination of reagents or samples by fungi or bacteria can lead to false positive as well as false negative results.

The use of contaminated samples may increase the background color of the test strips and lead to incorrect results.

In rare cases, e.g., hypergammaglobulinemia, circulating immune complexes, or milk antibodies, the test strips may turn blue very quickly. In such cases the color reaction should be stopped early by rinsing the test strips 3 times with deionized water.

## Sample Treatment

### Sample Collection

Collect serum or plasma (citrate, EDTA, heparin) of human origin in suitable sampling container.

### Sample Shelf Life and Storage

Samples can be stored at 2...8 °C for a maximum of 48 hours. For longer periods samples have to be stored at < -15 °C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

It should be noted that diluted antibodies may not be stable, which may lead to a loss of activity. Required follow-up testing at higher dilution therefore should be performed same day.

### Sample Preparation

*Serum/Plasma:*

Bring samples to RT before use. In general, homogeneity should be ensured by brief shaking.

Dilute serum or plasma samples 1 : 101 (v/v) (15 µL sample and 1500 µL diluted wash and incubation buffer (prepared from WIB (5x)) in the incubation well.

## Reagent Treatment

### Reagent Shelf Life and Storage

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

### Reagent preparation

Allow all components to reach **room temperature** prior to use. Return unused test strips to the pouch and seal.

Dilute **wash and incubation buffer WIB (5x)** 1 : 5 with deionized water.

Example: 70 mL WIB (5x) + 280 mL deionized water. The prepared wash and incubation buffer must be thoroughly mixed before use. Avoid foam formation!

The **substrate** must be protected from direct light.

## Assay Procedure

Test must be performed at room temperature (18...25 °C). Bring **all** ready-to-use test reagents and the diluted wash buffer to **room temperature**.

Place test strips in incubation wells using plastic tweezers. Imprinted numbers should point upwards.

All incubation steps should be performed on a rocking shaker with a recommended frequency of 20 to 30 rotations per minute.

Follow the pipetting scheme and time schedules of the protocol.

1. Incubate test strip  with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer for **5 min** on the shaker
2. Add **15 µL** of sample.
3. Cover tray with lid  and incubate on rocking shaker for **45 min**.
4. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
5. **Add 1.5 mL** conjugate  or .
6. Cover tray with lid  and incubate for **45 min** on rocking shaker.
7. Aspirate solutions and wash test strips **3x 5 min** with **1.5 mL** diluted wash and incubation buffer.
8. Incubate test strips with **1.5 mL**  for **10 min** on rocking shaker.
9. Aspirate substrate and rinse test strip **3x** with **1.5 mL** deionized water to stop color reaction.
10. **Dry** test strips between filter paper, then evaluate.



## Evaluation of Results

### Validity Criteria for the Test

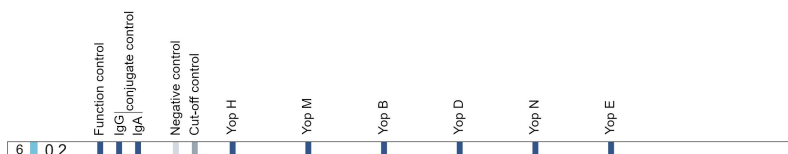
Each test strip of Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG and Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA contains 5 control bands:

1. The function control must be visible.
2. The conjugate controls IgG and IgA must be visible (positive band with the conjugate anti-human IgG-HRP or anti-human IgA-HRP used).

**Caution:** The respective other conjugate control can also show a pale, non-specific band depending on the sample.

3. The intensity of the negative control must be lower than that of the cut-off control.
4. The cut-off control must be visible (intensity of the bands is used to discriminate between positive and negative results).

Test may be evaluated if function control, expected conjugate control and cut-off control are visible.



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

Evaluate dry test strips only. Protect test strips from direct sunlight. Assign protein bands using the enclosed evaluation template.

Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and automatic evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

## Interpretation of Results

**Bands with an intensity  $\geq$  cut-off control only are considered positive.**

Evaluation	IgG	IgA
<b>Positive</b>	1 Yop D > cut-off control <b>or</b> 2 bands	Yop D <b>or</b> 2 bands
<b>Borderline</b>	Yop D = cut-off control <b>or</b> 1 band	1 band <b>except</b> Yop D
<b>Negative</b>	Color intensity of bands < cut-off control	Color intensity of bands < cut-off control

## Performance Characteristics

### Interfering Substances

All tested substances do not have a significant impact on the test results even if present in elevated concentrations in the serum: 20 mg/dL bilirubin C and F each (simulation of icteric samples); 500 mg/dL hemoglobin (simulation of hemolytic samples); 1000 mg/dL lipids (triglycerides) (simulation of lipemic samples) and 500 IU/mL rheumatoid factor.

### Diagnostic Sensitivity

For the determination of diagnostic sensitivity, n = 150 precharacterized samples were tested. Diagnostic sensitivities were determined in comparison to reference tests in Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG and Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA. Borderline samples were evaluated positively.

n = 150		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG	positive	130	0	0
	borderline	7	0	2
	negative	3	0	8
Samples total		140	0	10

Diagnostic sensitivity: 97.9%

n = 150		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA	positive	71	2	5
	borderline	4	1	4
	negative	7	3	53
Samples total		82	6	62

Diagnostic sensitivity: 88.6%

### Diagnostic Specificity

For the determination of diagnostic specificity, n = 100 blood donor samples were tested. Diagnostic specificities were determined in comparison to reference tests in Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG and Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA.

n = 100		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Yersinia-6 IgG	positive	25	0	1
	borderline	3	3	6
	negative	4	6	52
Samples total		32	9	59

Diagnostic specificity: 88.1%

n = 100		Reference test		
		positive	borderline	negative
Seraline® Anti-Yersinia-6 IgA	positive	9	0	0
	borderline	1	0	6
	negative	5	2	77
Samples total		15	2	83

Diagnostic specificity: 92.8%

## Application

### Software-based Evaluation

Evaluation is performed visually using the enclosed template. Alternatively, image acquisition with a conventional flatbed scanner and evaluation with Seraline®scan evaluation software is possible.

## Change History

<b>Version</b>	<b>Section</b>	<b>Modifications</b>
2022-11_v01_DE_EN	Entire document	Updating of the intended use Conversion of subsections Insertion of safety instructions Diagnostic sensitivity IgG calculated value corrected

## References

1. Cambronne ED, Schneewind O. *Yersinia enterocolitica* Type III Secretion: yscM1 and yscM2 Regulate yop Gene Expression by a Posttranscriptional Mechanism That Targets the 5' Untranslated Region of yop mRNA. *J Bacteriol* 2002; 184 (21): 5880-5893
2. Cornelis GR, Boland A, Boyd AP et al. The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62(4): 1315-1352
3. Cremer J, Putzker M, Faulde M et al. Immunoblotting of *Yersinia* plasmid-encoded released proteins: A tool for serodiagnosis. *Electrophoresis* 1993; 14: 952-959
4. Kendrick CJ, Baker B, Morris AJ et al. Identification of *Yersinia*-infected blood donors by anti-Yop IgG immunoassay. *Transfusion*, 2001; 41: 1365-1372
5. Kist M, Ackermann A, Autenrieth IB et al. MIQ 09: Gastrointestinale Infektionen. 2nd Edition, Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, 2013
6. Rastawicki W. Humoral response to selected antigens of *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis* in the course of yersiniosis in humans. I. Occurrence of antibodies to *Yersinia* lipopolysacharydes and Yop proteins by ELISA. *Med Dosw Mikrobiol* 2006; 58 (4): 303-319