

Serazym[®] Rotavirus

Enzimski imunotest za kvalitativnu detekciju antigena VP-6 (kapsidni protein) rotavirusa iz skupine A u uzorcima stolice ljudskog porijekla

REF E-020

 96

IVD *In vitro* dijagnostički medicinski proizvod

CE



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

IVD

In vitro dijagnostički medicinski proizvod

UDI

Jedinstvena identifikacija proizvoda



Proizvođač



Država proizvodnje i datum proizvodnje

REF

Broj artikla

SN

Serijski broj



Čuvati podalje od sunčeve svjetlosti



Ograničenje vlažnosti

LOT

Šifra serije



Pogledajte upute za uporabu



Ograničenje temperature



Nemojte ponovno upotrebljavati



Dovoljno za sljedeći broj testiranja: *n*



Biološka opasnost



Rok valjanosti



Pažnja

Predviđena uporaba

Serazym® Rotavirus jest in vitro dijagnostički (IVD) test za kvalitativno određivanje antigena VP-6 (kapsidni protein) rotavirusa iz skupine A u uzorcima stolice ljudskog porijekla za ručnu ili poluautomatiziranu obradu od strane stručnog osoblja u laboratoriju.

Namijenjen je kao pomoć pri dijagnosticiranju gastroenteritisa povezanog s rotavirusom u uzorcima od pacijenata sa simptomima gastroenteritisa.

Načelo testa

Serazym® Rotavirus enzimski je imunotest koji se temelji na poliklonskim protutijelima protiv epitopa antigena VP-6 specifičnog za skupinu, glavnog proteina rotavirusa iz skupine A. Razrijeđeni, netretirani uzorci stolice, kao i negativne i pozitivne kontrole, doziraju se istovremeno kao i peroksidazom (HRP) obilježena poliklonska protutijela protiv rotavirusa u jažice na mikrotitracijskoj ploči obloženoj poliklonskim protutijelima protiv rotavirusa. Nakon inkubacije nevezane komponente uklanjaju se u koraku ispiranja, a HRP pretvara bezbojnu otopinu supstrata u plavi reakcijski produkt u sljedećem koraku enzimske reakcije. Reakcija se zaustavlja dodavanjem otopine za zaustavljanje reakcije, uslijed čega dolazi do promjene boje iz plave u žutu. Optička gustoća (engl. optical density, OD) reakcijskog produkta, koja se mjeri s pomoću mjernog filtra od 450 nm te referentnog filtra od ≥ 620 nm, izravno je proporcionalna koncentraciji specifično vezanih antigena rotavirusa.

Komponente testa (opseg isporuke)

		Za 96 jažica	
1	WELLS	Mikrotitracijska ploča obložena < 20 µg/mL poliklonskim protutijelima (ovčjim) protiv rotavirusa	12 lomljivih pojedinačnih traka s 8 jažica, oznaka u tamno plavoj boji, s vakuumskom brtvom i sredstvom za sušenje
2	WASHBUF (10x)	Pufer za ispiranje (10 x) Seramun® Wash buffer A, pufer na bazi TRIS-a	100 mL koncentrata za otopinu od 1000 mL, bezbojan, bijeli čep
3	DIL	Razrjeđivač za uzorak Seramun® Sample diluent A, pufer na bazi fosfata	100 mL, spreman za uporabu, žute boje, crni čep
4	CONTROL +	Pozitivna kontrola < 5 µg/mL rekombinantnog rotavirusnog antigena	2,0 mL, spreman za uporabu, plave boje, crveni čep
5	CONTROL -	Negativna kontrola pufer na bazi TRIS-a	2,0 mL, spreman za uporabu, plave boje, zeleni čep
6	CONJ HRP	Konjugat HRP-a < 5 µg/mL HRP-om obilježenih poliklonskih anti-rotavirusnih protutijela (zečjih)	15 mL, spreman za uporabu, zelene boje, zeleni čep
7	SUBSTR	Supstrat SeramunBlau® automat fast, < 0,1 % 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina; < 0,05 % vodikova peroksida	15 mL, spreman za uporabu, bezbojan, plavi čep

8	STOP	Otopina za zaustavljanje reakcije SeramunBlau® stop, 0,25 M sumporne kiseline	15 mL, spreman za uporabu, bezbojan, žuti čep
9		Potvrda o analizi	1 komad
10		Upute za uporabu	1 komad

Dodatni materijali i pomagala potrebna za postupak testiranja

Podesiva jednokanalna mikropipeta • 8-kanalna mikropipeta ili višekanalna mikropipeta s vrhovima za pipete • Spremnici za reagense za doziranje s višekanalnom mikropipetom • 8-kanalni češalj za ispiranje s vakuumskom pumpom i bočicom za otpad ili alatom za pranje mikroploče • čitač mikroploče s mjernim filtrom od 450 nm i referentnim filtrom od ≥ 620 nm • deionizirana voda • menzura • epruvete za pripremu uzoraka

Važne informacije



Ovaj je proizvod namijenjen isključivo za *in vitro* dijagnostičku uporabu. Pažljivo slijedite upute. Komplet sastavnih dijelova smiju upotrebljavati samo zdravstveni djelatnici.

Nemojte upotrebljavati reagense iz oštećenih pakiranja ili bočica. Pridržavajte se navedenog roka trajanja. Nemojte miješati komponente s reagensima drugih proizvođača.

Miješanje komponenata kompleta sastavnih dijelova za test različitih serija dopušteno je samo za pufer za ispiranje (10 x), razrjeđivač za uzorak, negativna kontrola, supstrat i otopinu za zaustavljanje reakcije.

Pufer za ispiranje (10 x), razrjeđivač za uzorak, negativna kontrola, supstrat i otopina za zaustavljanje reakcije univerzalno su primjenjivi za Serazym® stool ELISA Adenovirus (E-017), Astrovirus (E-045), Norovirus (E-061), Rotavirus (E-020), 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) i H. pylori 2nd Gen. (E-114).

Svi ozbiljni štetni događaji koji se dogode u vezi s testom Serazym® Rotavirus moraju se prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države članice EU-a u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalazi.

Informacije o postupku testa

Svi reagensi moraju se čuvati na temperaturi od 2 - 8 °C. Prije uporabe pustite da sve komponente testa dosegnu sobnu temperaturu. Reagensi za koje se čini da su kontaminirani ne smiju se upotrebljavati.

Svaka jažica mikrotitracijske ploče smije se upotrebljavati samo jednom. Svaki uzorak i kontrola moraju se pipetirati novim vrhom pipete. Pozitivne i negativne kontrole spremne su za uporabu.

U slučaju većih serija uzoraka preporučuje se pipetirati reagense iz spremnika za tekućinu s pomoću višekanalnih mikropipeta kako bi se izbjegle vremenske odgode i kontaminacija. Pridržavajte se rasporeda pipetiranja i vremenskog slijeda protokola.

Koraci aspiracije i ispiranja mogu se izvršiti ručno ili s pomoću alata za pranje mikroploča ili pumpe za ispiranje. Otopinu za ispiranje treba ostaviti da postigne minimalno vrijeme reakcije od 5 s u jažicama po ciklusu ispiranja. Uklonite ostatke pufera temeljitom aspiracijom ili tapkanjem jažica!

Zaštitite supstrat od svjetla!


Sigurnosne upute

Reagensi se ne smiju progutati te se mora izbjegavati kontakt s kožom i sluznicama.

Rukujte svim komponentama i uzorcima pacijenata kao da se radi o potencijalno opasnom i infektivnom materijalu.

Dodatne informacije mogu se pronaći u sigurnosno-tehničkom listu.

Proizvod sadržava sljedeće opasne komponente:

Komponenta testa	Označavanje opasnih tvari i dodatne informacije o sastojcima
WELLS	Sadržava materijal životinjskog porijekla.
WASHBUF (10x)	EUH208: Sadržava reakcijsku smjesu 5-klor-2-metil-2H-izotiazol-3-ona i 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3 : 1). Može izazvati alergijsku reakciju. EUH210: Sigurnosno-tehnički list dostupan na zahtjev. Konzervansi: < 0,0015 %-tna reakcijska smjesa 5-kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-ona i 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3 : 1); < 0,1 %-tni 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksan
DIL	Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,1 % natrijeva azida
CONTROL +	Sadržava materijal mikrobnog i životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,1 % natrijeva azida
CONTROL -	Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,01 % natrijeva azida
CONJ HRP	EUH208: Sadržava reakcijsku smjesu 5-klor-2-metil-2H-izotiazol-3-ona i 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3 : 1). Može izazvati alergijsku reakciju. EUH210: Sigurnosno-tehnički list dostupan na zahtjev. Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,0015 %-tna reakcijska smjesa 5-kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-ona i 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3 : 1); < 0,1 %-tni 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksan
SUBSTR	Opasna komponenta: 2-pirolidon Signalna riječ: Opasnost  H360: može štetno djelovati na plodnost ili naškoditi nerođenom djetetu. P201: prije uporabe pribaviti posebne upute. P280: nositi zaštitne rukavice/zaštitno odijelo/zaštitu za oči/zaštitu za lice. P308+P313: U SLUČAJU izloženosti ili sumnje na izloženost: zatražiti savjet/pomoć liječnika. Samo za profesionalne korisnike. Konzervansi: < 0,00015 %-tna reakcijska smjesa 5-kloro-2-metil-2H-izotiazol-3-ona i 2-metil-2H-izotiazol-3-ona (3 : 1)
STOP	

Ograničenja postupka

Kvalitativna enzimska imunološka detekcija rotavirusa u uzorcima stolice ne dopušta korelaciju između izmjerenog OD-a i ozbiljnosti infekcije. Korelacija između apsorbancije uzoraka i apsorbancije pozitivne kontrole također nije dopuštena. Uslijed križne kontaminacije reagensa i uzoraka može doći do lažnih rezultata. Nepravilno razrjeđivanje, nedovoljno homogenizirani uzorci i čestice koje nisu sedimentirane centrifugiranjem mogu uzrokovati koliko lažno pozitivne, toliko i lažno negativne rezultate testa. Preporučuje se uzimanje uzoraka tijekom akutne faze infekcije jer se očekuje da će u toj fazi biti najviše izlučenih čestica u uzorcima. Ispitivanjem uzoraka koji su uzeti nakon akutne faze infekcije mogu se

dobiti lažno negativni rezultati jer broj virusnih čestica može postati manji od granice detekcije testa. Virusi u cjepivima koja se primjenjuju oralnim putem u sklopu cijepljenja protiv rotavirusa mogu se izlučiti i uzrokovati pozitivan rezultat testa. Negativan rezultat testa dobiven testom Serazym® Rotavirus ne isključuje infekciju. Do lažno negativnih rezultata testiranja može doći uslijed nepravilnog vremenskog rasporeda prikupljanja uzorka ili nehomogene distribucije antigena u uzorku. Za ukupno tumačenje rezultata testa ELISA mora se uzeti u obzir potpuna klinička slika.

Obrada uzorka

Prikupljanje uzorka

Prikupite uzorak stolice u prikladan spremnik za uzorkovanje.

Primjer: epruveta za stolicu s žličicom i navojnim čepom (107 x 25 mm), prozirna

Rok valjanosti i pohrana uzorka

Uzorci stolice trebaju se pohraniti na 2...8 °C ili na -20 °C odmah nakon prikupljanja i pregledati u roku od 72 sata. Ponovljeno zamrzavanje (> 3 x) i odmrzavanje uzoraka moraju se izbjegavati zbog rizika od netočnih rezultata. Uzorci stolice koji su već razrijeđeni u razrjeđivaču za uzorke Seramun® Sample diluent A u skladu s uputama za uporabu mogu se pohraniti na 2...8 °C do 72 h i nakon toga analizirati testom ELISA.

Priprema uzoraka

Dobro promiješajte netretirane uzorke stolice i razrijedite ih puferom za uzorke u omjeru 1 : 6.

Primjer: Pipetirajte 500 µL pufera za uzorke u reakcijsku epruvetu. Ako su uzorci stolice kruti ili polukruti, prenesite 100 mg (promjera otprilike 2–3 mm) štapićem za jednokratnu uporabu; ako su uzorci stolice tekući, prenesite 100 µL u pufer za uzorke i dobro promiješajte. Po potrebi sedimentirajte suspendirane čestice centrifugiranjem u mikrocentrifugi tijekom 1 min pri najvećoj brzini.

Obrada reagensa

Rok valjanosti i pohrana reagensa

Potpuni komplet sastavnih dijelova testa sa zabrtvljenim bočicama reagensa i mikrotitracijskim trakama može se pohraniti na 2...8 °C do otisnutog roka valjanosti. Sve otvorene komponente kompleta sastavnih dijelova testa stabilne su do 2 mjeseca ako se pravilno pohrane na 2 - 8 °C. Razrijeđeni pufer za ispiranje može se čuvati na 2...8 °C do 1 mjeseca.

Priprema reagensa

Mikrotitracijska ploča s lomljivim trakama s 8 jažica, vakuumskom brtvom i sredstvom za sušenje. Prije otvaranja pustite da pakiranje dosegne sobnu temperaturu. Zaštitite neupotrijebljene jažice od vlage i pohranite ih u hladnjak s pažljivo ponovno zabrtvljenim sredstvom za sušenje u originalnoj vrećici. Razrijedite pufer za ispiranje (10 x) u omjeru 1 : 10 deioniziranom vodom.

Primjer: 10 mL Seramun® Wash buffer A (10 x) + 90 mL deionizirane vode.

Postupak testa

1. Pustite da reagensi testa i potreban broj jažica dosegnu sobnu temperaturu (engl. room temperature, RT). Prije uporabe lagano protresite reagentse. Nemojte dopustiti da se zapjene.
2. Pipetirajte 75 μ L **CONJ HRP** konjugata HRP-a po jažici.
3. Dodajte 75 μ L **CONTROL +** pozitivne kontrole
75 μ L **CONTROL -** negativne kontrole
50 μ L razrijeđenog uzorka stolice u svaku jažicu i lagano promiješajte.
4. Pokrijte ploču i inkubirajte tijekom 60 min na sobnoj temperaturi.
5. Procijedite te zatim operite svaku jažicu 5 x s 300 μ L razrijeđenog pufera za ispiranje. Po potrebi osušite upijajućim papirom.
6. 75 μ L **SUBSTR** supstrata po jažici.
7. Inkubirajte 10 min na RT-u **uz zaštitu od svjetlosti**.
8. 75 μ L **STOP** otopine za zaustavljanje reakcije po jažici, lagano promiješajte.
9. Izmjerite OD s pomoću mjernog filtra od 450 nm i referentnog filtra od ≥ 620 nm koristeći čitač mikroploča u roku od 30 min nakon zaustavljanja reakcije.

Procjena rezultata

Kvalitativna evaluacija:

Određivanje granične vrijednosti: OD negativne kontrole + 0,20

Uzorci koji pokazuju vrijednosti OD-a koje su jednake graničnoj vrijednosti ili više od nje smatraju se pozitivnima, dok se uzorci s vrijednostima OD-a koje su niže od granične vrijednosti smatraju negativnima za antigene VP-6 specifične za rotavirus.

Testiranje je valjano ako je:

- srednji OD negativne kontrole $\leq 0,20$ (ručna obrada)
 $\leq 0,30$ (automatska obrada)
- srednji OD pozitivne kontrole $\geq 1,20$

Ako se ne ispune prethodno navedeni kriteriji kvalitete, test se mora ponoviti uz strogo pridržavanje postupka testa (vremena i temperature inkubacije, razrjeđivanje uzorka i pufera za ispiranje, koraci ispiranja itd.). U slučaju ponovljenog neispunjavanja kriterija kvalitete obratite se proizvođaču.

Tumačenje rezultata

Pozitivan	\geq graničnoj vrijednosti
Negativan	$<$ granične vrijednosti

Preporučuje se da svaki laboratorij ustanovi svoje normalne i patološke referentne raspone.

Karakteristike učinkovitosti

Preciznost

Kako bi se odredila preciznost, 4 uzorka stolice izmjerena su više puta. Radi utvrđivanja koeficijenta varijacije (engl. coefficient of variation, CV) unutar testa uzorci su mjereni u dvanaesterostrukom određivanju u jednom testiranju.

Utvrđivanje koeficijenta varijacije među testovima izvršeno je trostrukim određivanjem u 10 različitih testiranja.

Uzorak	Koeficijent varijacije unutar testa		Koeficijent varijacije među testovima	
	\bar{x} OD	CV (%)	\bar{x} OD	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

Granica detekcije

Donja granica detekcije testa Serazym® Rotavirus utvrđena je titracijom pročišćenog soja SA-11 rotavirusa u količini < 10 ng/mL (što je jednako 10^6 virusnih čestica / g uzorka stolice).

Osjetljivost i specifičnost

Osjetljivost i specifičnost testa Serazym® Rotavirus utvrđene su u retrospektivnom ispitivanju s 488 uzoraka stolice u usporedbi s komercijalno dostupnim testom ELISA.

n = 488	ELISA pozitivan	ELISA negativan
Serazym® ELISA pozitivan	246	0
Serazym® ELISA negativan	4	238

Osjetljivost: 98,4 %

Specifičnost: 100 %

Križna reaktivnost

Uzorci stolice pozitivni na jedan od sljedećih patogena ispitani su testom Serazym® Rotavirus i nisu uzrokovali križnu reaktivnost:

Adenovirus, Astrovirus, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Giardia lamblia*, Norovirus, *Salmonella enteritidis* i uzorci stolice s razinama hemoglobina koje se mogu detektirati (> 10 µg/g).

U negativne suspenzije stolice dodani su sljedeći mikroorganizmi s brojem bakterija $\geq 10^8$ jedinica koje tvore kolonije po mL u puferu za uzorke i imale su negativan rezultat na testu Serazym® Rotavirus (mjerni filtar od 450 nm i referentni filtar od ≥ 620 nm < granične vrijednosti):

<i>Aeromonas hydrophila</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>Escherichia coli</i>	(ATCC 25922)

<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 13883)
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	(ATCC 27337)
<i>Proteus vulgaris</i>	(ATCC 8427)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(ATCC 10145)
<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>typhimurium</i>	(ATCC 14028)
<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 parahaemolyticus</i>	(ATCC 17802)
<i>Vibrio cholerae</i>	Klinički izolat
<i>Yersinia enterocolitica</i> Serotyp O3, O9	Klinički izolat

Interferencija

Za nijednu od sljedećih tvari u navedenim koncentracijama koja je dodana uzorcima stolice pozitivnima ili negativnima na rotavirus nije zabilježen značajan utjecaj na rezultate testa: barijev sulfat (5 %), Buscopan® (2 mg/mL), ciklamat (5 %), diklofenak (2 mg/mL), ljudski hemoglobin (5 mg/mL), ljudska krv (5 %), Hylak® N (5 %), Iberogast® (5 %), Imodium® 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), palmitinska kiselina (20 %), Pentofuryl® (2 mg/mL), Pepto-Bismol (1 mg/mL), Perenterol (2,5 mg/mL), Rennie® (8 mg/mL), Simagel® (2 mg/mL), stearinska kiselina (20 %), vankomicin (2 mg/mL).

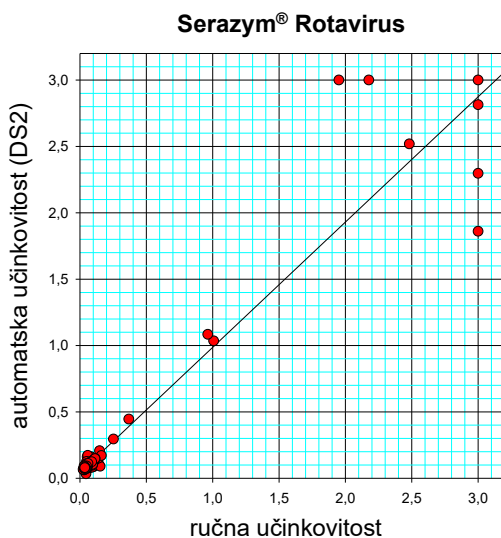
Automatska obrada

Na korisniku je odgovornost da prije uporabe ovog proizvoda validira mikrotitarske automatske uređaje i pripadajuće aplikacijske datoteke. Za pripadajuće aplikacijske datoteke za uporabu dolje navedenih mikrotitarskih automatskih uređaja može se kontaktirati lokalni distributer.

Izvođenje testa Serazym® Rotavirus na potpuno automatiziranim procesorima mikroplača (npr. DS2®, DSX®, Dynex Technologies) može uzrokovati povišene vrijednosti apsorbancije u usporedbi s ručnim postupkom zbog razlika u postupcima ispiranja i tehničkim specifikacijama opreme. U tim slučajevima maksimalna vrijednost OD = 0,3 dopuštena je za negativnu kontrolu. Preporučuje se programirati protokol ispiranja uz vrijeme namakanja od 10 s po traci i koraku ispiranja. Nakon svakog ciklusa ispiranja preporučuje se provesti korak završnog ispiranja deioniziranom vodom uz vrijeme namakanja od 10 s. Po potrebi se broj koraka za ispiranje može povećati na 7 x ili 8 x.

Korelacija: ručna - automatska obrada

Panel od 133 uzorka stolice obrađen je usporedno ručno i automatski (DS2®, Dynex Technologies). Koeficijent korelacije izračunat je kao $r = 0,96$.



Povijest izmjena

Verzija	Dio	Izmjene
2026-05	Naslovna stranica	Prilagodba broja artikla konceptu pakiranja
	Komponente testa (sadržaj isporuke)	Prilagodba volumena konceptu pakiranja, dopuna količine ili koncentracije aktivne komponente
	Dodatni materijali i pomagala potrebni za izvođenje testa	Dopuna „spremnici za reagense za doziranje pomoću multikanalne mikropipete”
	Važne napomene	Uključivanje negativne kontrole kao lot- i proizvodno-nezavisne komponente; tablica pod „Sigurnosne napomene” prilagođena označavanju na etiketi
	Obrada uzoraka	Dopuna primjera spremnika za uzorke
	Izvođenje testa	Prilagodba konceptu pakiranja
	Primjena: automatska obrada	Uključivanje odgovornosti korisnika
	Obrada reagensa	Prijevod za washing buffer je korigiran