

## Serazym<sup>®</sup> Astrovirus

Enzimski imunotest za kvalitativnu detekciju kapsidnog poliproteina humanih patogenih astrovirusa u uzorcima stolice ljudskog porijekla

**REF** E-045  $\Sigma$  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](mailto:info@seramun.com) • [www.seramun.com](http://www.seramun.com)



In vitro dijagnostički medicinski proizvod



Država proizvodnje i datum proizvodnje



Čuvati podalje od sunčeve svjetlosti



Pogledajte upute za uporabu



Dovoljno za sljedeći broj testiranja: *n*



Jedinstvena identifikacija proizvoda



Broj artikla



Ograničenje vlažnosti



Ograničenje temperature



Biološka opasnost



Proizvođač



Serijski broj



Šifra serije



Nemojte ponovno upotrebljavati



Rok valjanosti



Pažnja

## Predviđena uporaba

Serazym® Astrovirus je in vitro dijagnostički (IVD) test za kvalitativno određivanje kapsidnog poliproteina humanih patogenih astrovirusa 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 astrovirusom u uzorcima od pacijenata sa simptomima gastroenteritisa.

## Načelo testa

Serazym® Astrovirus enzimski je imunotest koji se temelji na poliklonskim i monoklonskim protutijelima protiv antigena specifičnih za astrovirus. Razrijeđeni, netretirani uzorci stolice, kao i negativne i pozitivne kontrole, doziraju se istovremeno kao i peroksidazom (HRP) obilježena monoklonska protutijela protiv astrovirusa u jažice na mikrotitracijskoj ploči obloženoj poliklonskim protutijelima protiv astrovirusa. Nakon inkubacije nevezane komponente uklanjaju se u koraku ispiranja, a zatim HRP pretvara bezbojnu otopinu supstrata u plavi reakcijski produkt u sljedećem koraku enzimske reakcije. Nakon inkubacije 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  $\geq 620$  nm, izravno je proporcionalna koncentraciji specifično vezanih antigena astrovirusa.

## Komponente testa (opseg isporuke)

		Za 96 jažica	
1	<b>WELLS</b>	<b>Mikrotitracijska ploča</b> obložena < 10 µg/mL poliklonskim protutijelima (ovčjim) protiv astrovirusa	12 lomljivih pojedinačnih traka s 8 jažica, oznaka u svijetlo plavoj boji, s vakuumskom brtvom i sredstvom za sušenje
2	<b>WASHBUF (10x)</b>	<b>Pufer za ispiranje (10 x)</b> Seramun® Wash buffer A, pufer na bazi TRIS-a	100 mL koncentrata za otopinu od 1000 mL, bezbojan, bijeli čep
3	<b>DIL</b>	<b>Razrjeđivač za uzorak</b> Seramun® Sample diluent A, pufer na bazi fosfata	100 mL, spreman za uporabu, žute boje, crni čep
4	<b>CONTROL +</b>	<b>Pozitivna kontrola</b> 1 µg/mL rekombinantnog astrovirusnog antigena	2,0 mL, spreman za uporabu, plave boje, crveni čep
5	<b>CONTROL -</b>	<b>Negativna kontrola</b> pufer na bazi TRIS-a	2,0 mL, spreman za uporabu, plave boje, zeleni čep
6	<b>CONJ HRP</b>	<b>Konjugat HRP-a</b> < 5 µg/mL HRP-om obilješeni monoklonskih anti-astrovirusnih protutijela (mišjih)	15 mL, spreman za uporabu, zelene boje, zeleni čep
7	<b>SUBSTR</b>	<b>Supstrat</b> SeramunBlau® automat fast, < 0,1 % 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina; < 0,05 % vodikova peroksida	15 mL, spreman za uporabu, bezbojan, plavi čep
8	<b>STOP</b>	<b>Otopina za zaustavljanje reakcije</b> 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  $\geq 620$  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® Astrovirus 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 upotrijebiti 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
<b>WELLS</b>	Sadržava materijal životinjskog porijekla.
<b>WASHBUF (10x)</b>	EUH208: Sadrži reakcijska smjesa 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
<b>DIL</b>	Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,1 % natrijeva azida
<b>CONTROL +</b>	Sadržava materijal mikrobnog i životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,1 % natrijeva azida
<b>CONTROL -</b>	Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,01 % natrijeva azida
<b>CONJ HRP</b>	EUH210: Sigurnosno-tehnički list dostupan na zahtjev. Sadržava materijal životinjskog porijekla. Konzervansi: < 0,1 %-tni 5-bromo-5-nitro-1,3-dioksan
<b>SUBSTR</b>	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)
<b>STOP</b>	-

## Ograničenja postupka

Kvalitativna enzimaska imunološka detekcija antigena astrovirusa u uzorcima stolice ne dopušta korelaciju između izmjerenog OD-a i ozbiljnosti infekcije. Korelacija između OD-a uzoraka i OD-a 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. Negativan rezultat testa dobiven testom Serazym® Astrovirus 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 24 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 zabrtvljena je 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: pufer za ispiranje od 10 mL (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 reagensse. Nemojte dopustiti da se zapjene.
2. Pipetirajte 75  $\mu$ L **CONJ HRP** konjugata HRP-a po jažici.
3. Dodajte 75  $\mu$ L **CONTROL +** pozitivne kontrole  
75  $\mu$ L **CONTROL -** negativne kontrole  
50  $\mu$ 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  $\mu$ L razrijeđenog pufera za ispiranje. Po potrebi osušite upijajućim papirom.
6. 75  $\mu$ L **SUBSTR** supstrata po jažici.
7. Inkubirajte 10 min na RT-u **uz zaštitu od svjetlosti**.
8. 75  $\mu$ L **STOP** otopine za zaustavljanje reakcije po jažici, lagano promiješajte.
9. Izmjerite OD s pomoću mjernog filtra od 450 nm i referentnog filtra od  $\geq 620$  nm koristeći čitač mikroploča u roku od 30 min nakon zaustavljanja reakcije.

## Procjena rezultata

### Kvalitativna evaluacija

Određivanje granične vrijednosti: OD negativne kontrole + 0,10

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 astrovirusa.

Testiranje je valjano ako je:

- srednji OD negativne kontrole  $\leq 0,15$  (ručna obrada)  
 $\leq 0,30$  (automatska obrada)
- srednji OD pozitivne kontrole  $\geq 1,00$

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 osmerostrukom određivanju u jednom testiranju.

Utvrđivanje koeficijenta varijacije među testovima izvršeno je osmerostrukim određivanjem u 6 različitih testiranja.

Uzorak	Koeficijent varijacije unutar testa		Koeficijent varijacije među testovima	
	$\bar{x}$ OD	CV (%)	$\bar{x}$ OD	CV (%)
1	1,667	8,9	1,853	3,8
2	0,994	6,4	1,019	5,8
3	0,443	6,1	0,583	11,9
4	0,185	9,8	0,350	9,7

### Granica detekcije

Donja granica detekcije testa Serazym® Astrovirus utvrđena je titracijom pročišćenog antigena astrovirusa na 6 ng/mL.

### Osjetljivost i specifičnost

Osjetljivost i specifičnost testa Serazym® Astrovirus utvrđene su u retrospektivnom ispitivanju s 98 uzoraka stolice u usporedbi s komercijalno dostupnim testom ELISA.

n = 98	ELISA pozitivan	ELISA negativan
Serazym® ELISA pozitivan	49	0
Serazym® ELISA negativan	2	47

Osjetljivost: 96,1 %

Specifičnost: 100 %

## Križna reaktivnost

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

Adenovirus, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Giardia lamblia*, Norovirus, Rotavirus, *Salmonella enteritidis*.

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® Astrovirus (mjerni filtar od 450 nm i referentni filtar od  $\geq 620$  nm < granične vrijednosti):

<i>Aeromonas hydrophila</i>	(ATCC 7966)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(ATCC 13883)
<i>Bacillus cereus</i>	(ATCC 11778)	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	(ATCC 27337)
<i>Bacillus subtilis</i>	(ATCC 6633)	<i>Proteus vulgaris</i>	(ATCC 8427)
<i>Bacteroides fragilis</i>	(ATCC 25285)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(ATCC 10145)
<i>Candida albicans</i>	(ATCC 10231)	<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Campylobacter coli</i>	(ATCC 33559)	<i>Salmonella enterica</i> Serovar <i>typhimurium</i>	(ATCC 14028)
<i>Campylobacter jejuni</i>	(ATCC 33291)	<i>Shigella flexneri</i>	(ATCC 12022)
<i>Citrobacter freundii</i>	(ATCC 8090)	<i>Shigella sonnei</i>	(ATCC 25931)
<i>Clostridium sordellii</i>	(ATCC 9714)	<i>Staphylococcus aureus</i>	(ATCC 25923)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	(ATCC 13048)	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(ATCC 12228)
<i>Enterobacter cloacae</i>	(ATCC 13047)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	(ATCC 17802)
<i>Enterococcus faecalis</i>	(ATCC 29212)	<i>Vibrio cholerae</i>	Klinički izolat
<i>Escherichia coli</i>	(ATCC 25922)	<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 astrovirus 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), 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).

\*Dodavanje tvari Hylak® N od 5 % (v/v) u suspenzije stolice pozitivne na astrovirus može smanjiti vrijednosti OD-a.

## Primjena

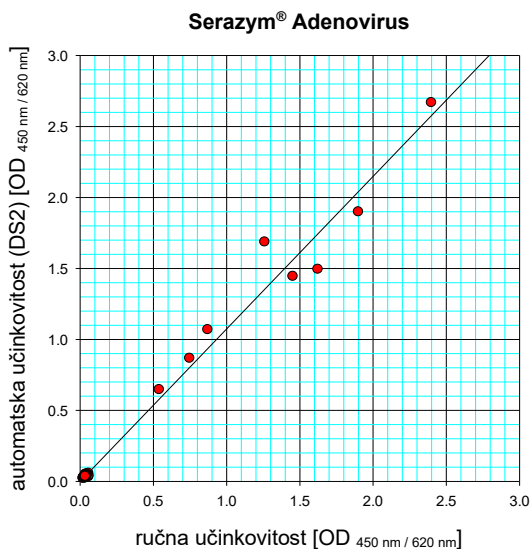
### Automatska obrada

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® Astrovirus na potpuno automatiziranim procesorima mikroploča (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 96 uzoraka stolice obrađen je usporedno ručno i automatski (DS2®, Dynex Technologies). Koeficijent korelacije izračunat je kao  $r = 0,993$ .



## Povijest izmjena

Verzija	Dio	Izmjene
2026-05	Naslovna stranica	Prilagodba kataloškog broja (REF) 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, prilagodba pohrane razrijeđenih uzoraka stolice s 48 h na 24 h
	Izvođenje testa	Prilagodba konceptu pakiranja
	Primjena: automatska obrada	Uključivanje odgovornosti korisnika za validaciju automatskih uređaja za mikrotitarske ploče
Obrada reagensa	Prijevod za washing buffer je korigiran.	