


Serazym[®] Anti-Francisella tularensis

Fermentinis imunologinis tyrimas, skirtas kokybiškai nustatyti IgG, IgM ir IgA antikūnus prieš *Francisella tularensis* lipopolisacharidą (LPS) žmogaus serume.

REF E-049  96
IVD In-vitro diagnostikos medicinos priemonė **CE**



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

UDI Unikalus produkto identifikavimas



Gamybos šalis ir pagaminimo data



Drėgmės apribojimas



Laikytis naudojimo instrukcijų



Pakanka *n* tyrimų

IVD In vitro diagnostikos medicinos priemonė



Nenaudoti pakartotinai



Saugoti nuo saulės spindulių



Tinkamumas naudoti iki



Biologinė rizika



Gamintojas



Serijos numeris



Gaminio numeris



Partijos numeris



Temperatūros diapazonas



Dėmesio!

Numatyta paskirtis

„Serazym® Anti-Francisella tularensis“ yra IVD testas, skirtas kokybiškai nustatyti IgG, IgM ir IgA izotipų antikūnus prieš *Francisella tularensis* lipopolisacharidą (LPS) žmogaus kraujo serume, kurį atlieka specializuotas naudotojas laboratorinėmis sąlygomis.

Naudotinas kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant tularemiją pacientų, kuriems įtariama tularemija, mėginiuose.

Tyrimo negalima naudoti su kitomis nei žmogaus serumas mėginių medžiagomis, taip pat diagnozei, stebėsenai, atrankai, prognozei, kaip papildomos diagnostinės priemonės, slaugos vietoje ir neprofesionalams.

Tyrimo principas

„Serazym® Anti-Francisella tularensis“ - tai fermentinis imunologinis tyrimas, kurio metu praskiesti serumo mėginiai, du teigiami kontroliniai mėginiai ir neigiamas kontrolinis mėginys reaguoja su lipopolisacharidu (LPS) *Francisella tularensis*, adsorbuotu ant kietosios fazės. Po 30 minučių inkubavimo 37 °C temperatūroje nesusiję komponentai pašalinami plaunant. Antrajame inkubavimo etape peroksidazės (HRP) žymėti antižmogaus IgG/IgM/IgA antikūnai jungiasi su mėginio antikūnais. Po 15 minučių trunkantį fermentinės reakcijos etapą HRP paverčia bespalvį substrato tirpalą mėlynu reakcijos produktu. Ši reakcija nutraukiama po inkubavimo įpylus stabdymo tirpalo, dėl kurio mėlynas tirpalas pakeičia spalvą į geltoną. Galutinio produkto optinis tankis (OD), išmatuotas esant 450 nm matavimo filtrui ir ≥ 620 nm etaloniniam filtrui, yra tiesiogiai proporcingas specifškai surištų antikūnų koncentracijai.

Tyrimo sudedamosios dalys (tiekimą apimtis)

		96 šulinėliai	
1	WELLS	Mikrotitravimo plokštelė dengtas <i>Francisella tularensis</i> LPS	12 dalomų juostelių po 8 šulinėlius, bespalvis, vakuuminiu būdu uždaromas su sausu maišeliu
2	WASHBUF (10x)	Plaunamasis buferis (10x) „Seramun®“ plovimo buferis K TRIS pagrindu pagamintas buferinis tirpalas	100 ml koncentrato, 1000 ml tirpalo, bespalvis, baltas dangtelis
3	DIL	Mėginio buferinis tirpalas „Seramun®“ mėginio skiediklis P TRIS pagrindu pagamintas buferinis tirpalas	100 ml, paruoštas naudoti, oranžinės ir raudonos spalvos, juodas dangtelis
4	CONTROL +	Teigiama kontrolė Absorbciją žr. analizės sertifikate	0,5 ml, paruoštas naudoti, mėlyna spalva, raudonas dangtelis
5	CONTROL w	Silpna teigiama kontrolė Absorbciją žr. analizės sertifikate	0,5 ml, paruoštas naudoti, mėlyna spalva, baltas dangtelis
6	CONTROL -	Neigiama kontrolė Absorbciją žr. analizės sertifikate	0,5 ml, paruoštas naudoti, mėlyna spalva, žalias dangtelis
7	CONJ HRP	HRP konjugatas HRP žymėti antižmogaus IgG-F(ab)2 (ožkos), antižmogaus IgM (avies) ir antižmogaus IgA (avies) antikūnai	12 ml, paruoštas naudoti, žalios spalvos, raudonas dangtelis

8	SUBSTR	Substratas SeramunBlau® fast2 <0,1 % 3,3',5,5'- tetrametilbenzidinas	15 ml, paruoštas naudoti, bespalvis, mėlynas dangtelis
9	STOP	Stabdantis tirpalas SeramunBlau® stop 0,25 M sieros rūgštis	15 ml, paruoštas naudoti, bespalvis, geltonas dangtelis
10	COVER	Dengiamoji plėvelė	2 vnt.
11		Analizės sertifikatas	1 vnt.
12		Naudojimo instrukcija	1 vnt.

Medžiagos ir pagalbines priemones, papildomai reikalingos tyrimui atlikti

Reguliuojama vienkanalė mikropipetė • 8 kanalų pipetė arba daugiakanalė pipetė su pipetės antgaliais
• Reagentų talpykla daugiakanalėms mikropipetėms • 8 kanalų rankinio plovimo šukos su vakuuminiu siurbliu ir atliekų talpyklomis arba mikroplokštelių plovimo įrenginys • Mikrotitravimo plokštelių fotometras su 450 nm matavimo ir 620 nm pamatiniu filtru • Dejonizuotas vanduo • Matavimo cilindras
• Mėgintuvėliai mėginiams skiesti

Svarbios pastabos



Šis tyrimo rinkinys skirtas tik *in vitro* diagnostikai ir jį gali naudoti tik išmokytas laboratorijos personalas.

Būtina griežtai laikytis naudojimo instrukcijų. Tyrimo rinkinį ir atidarytus reagentus galima naudoti tik per nurodytą galiojimo laiką. Negalima naudoti komponentų iš pažeistų pakuočių ar butelių. Neleidžiama užpildyti atidaryto tyrimo rinkinio kitų gamintojų reagentais.

Skirtingų partijų bandymų rinkinio komponentus leidžiama maišyti tik komponentams plovimo buferiniam tirpalui (10x), substratui ir stabdymo tirpalui.

Apie visus rimtus incidentus, susijusius su „Serazym® Anti-Francisella tularensis“, reikia pranešti gamintojui ir ES valstybės narės, kurioje yra įsisteigęs naudotojas ir (arba) pacientas, kompetentingai institucijai.

Pastabos dėl tyrimo atlikimo

Reagentų laikymo temperatūra iki pakartotinio naudojimo yra 2...8 °C. Prieš naudojimą visus tyrimo komponentus reikia pašildyti iki kambario temperatūros.

Didesnėms mėginių serijoms patartina pipetuoti reagentus iš skysčio rezervuarų naudojant daugiakanalę pipetę, kad būtų išvengta laiko uždelsimo.

Būtina laikytis pipetavimo etapų tvarkos ir inkubavimo etapų trukmės.

Siurbimo ir plovimo etapus galima atlikti rankiniu būdu arba naudojant mikrotitravimo plokštelės poveržlę arba vandens srovės siurbį.

Plaunant leiskite praskiestam plovimo buferiui veikti bent 5 sekundes ir pašalinkite visus plovimo buferio likučius kruopščiai išsiurbdami arba išmušdami šulinėlius!

Substratą laikykite apsaugotą nuo šviesos! Jei substratas yra tamsios spalvos arba jame yra dalelių, jo naudoti nebegalima.

Saugos instrukcijos

Nenurykite reagentų ir venkite sąlyčio su gleivinėmis.

Kai kuriuose reagentuose gali būti biocidų kaip konservantų.

Dirbant su tyrimo rinkinio komponentais ir pacientų mėginiais ir kontrolinėmis medžiagomis, reikia laikytis nelaimingų atsitikimų prevencijos taisyklių, kai dirbama su potencialiai infekcinėmis medžiagomis ir pavojingomis cheminėmis medžiagomis.

Papildomos informacijos apie šiose naudojimo instrukcijose pateiktą informaciją galima rasti saugos duomenų lape.

Produkto sudėtyje yra šių pavojingų medžiagų:

WELLS	-	Sudėtyje yra gyvūninės kilmės medžiagų.
WASHBUF (10x)	EUH208	Sudėtyje yra 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-ono ir 2-metil-2H-izotiazol-3-ono mišinio (3:1). Gali sukelti alerginių reakcijų.
	EUH210	Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius.
DIL	-	Sudėtyje yra gyvūninės kilmės medžiagų.
CONTROL +	EUH208	Sudėtyje yra 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-ono ir 2-metil-2H-izotiazol-3-ono mišinio (3:1). Gali sukelti alerginių reakcijų.
	EUH210	Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius.
CONTROL w	EUH208	Sudėtyje yra 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-ono ir 2-metil-2H-izotiazol-3-ono mišinio (3:1). Gali sukelti alerginių reakcijų.
	EUH210	Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius.
CONTROL -	-	Sudėtyje yra gyvūninės kilmės medžiagų.
CONJ HRP	EUH208	Sudėtyje yra 5-chlor-2-metil-2H-izotiazol-3-ono ir 2-metil-2H-izotiazol-3-ono mišinio (3:1). Gali sukelti alerginių reakcijų.
	EUH210	Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius.
SUBSTR	EUH210	Saugos duomenų lapą galima gauti paprašius
STOP	-	-

Metodo apribojimai

Reagentų ir mėginių užteršimas bakterijomis ar grybeliais, taip pat kryžminis tyrimo rinkinio reagentų ir mėginių užteršimas gali lemti neteisingus rezultatus. Netinkamas plovimas, siekiant atskirti nesusietus komponentus nuo mėginių ir tyrimo reagentų, taip pat netinkamas mėginių ir kontrolinių medžiagų inkubavimo laikas taip pat gali lemti neteisingus rezultatus.

Bendras ELISA tyrimo rezultatas turi būti aiškinamas atsižvelgiant į klinikinį vaizdą.

Tam tikrais atvejais gali būti naudinga ištirti dar vieną serumo mėginį, paimtą kelių savaičių intervalu.

Mėginių apdorojimas

Mėginių ėmimas

Surinkite žmogaus kilmės serumą į tinkamą indą.

Mėginių laikymo laikas ir laikymas

Žmogaus kilmės serumo mėginius laikykite 2...8 °C temperatūroje ne ilgiau kaip 2 dienas. Jei mėginiai saugomi ilgiau, jie turi būti laikomi -20 °C temperatūroje. Venkite daugkartinio (>3 kartus) mėginių užšaldymo ir atšildymo.

Mėginių paruošimas

Prieš naudojimą pašildykite mėginius iki kambario temperatūros ir trumpai pakratydami užtikrinkite jų homogeniškumą.

Pacientų mėginiai su 1 mėginio buferiniu tirpalu: Praskieskite 51 (V/V) mėgintuvėlyje (reikia papildomo reagento).

Pavyzdys: 10 µl mėginio + 500 µl mėginio buferio.

Reagentų apdorojimas

Reagentų tinkamumo laikas ir laikymas

Visą tyrimų rinkinį su sandariais reagentų buteliukais ir mikrotitravimo juostelėmis galima laikyti 2-8 °C temperatūroje iki ant jų nurodytos galiojimo datos. Visi atidaryto tyrimų rinkinio komponentai yra stabilūs iki 2 mėnesių, jei tinkamai laikomi 2...8 °C temperatūroje. Praskiestą plovimo buferį galima laikyti 2...8 °C temperatūroje iki 1 mėnesio.

Reagento paruošimas

Mikrotitravimo plokštelė su dalomomis juostelėmis vakuuminio būdu uždara aliuminio maišelyje su sausikliu. Neatidarykite pakuotės, kol ji nesušils iki kambario temperatūros. Nenaudojamus šulinėlius apsaugokite nuo drėgmės ir sudėkite atgal į maišelį kartu su sausikliu ir užsandarinkite.

Plaunamasis buferinis tirpalas (10 x) 1: 10 su dejonizuotu vandeniu.

Pavyzdys: 10 ml plovimo buferio (10x) + 90 ml dejonizuoto vandens.

Visi jamekomponentai, išskyrus plovimo buferį, yra paruošti naudoti.

Tyrimo atlikimas

- Pašildykite tyrimo reagentus ir reikiamą šulinėlių skaičių iki kambario temperatūros (KT) ir prieš naudodami švelniai papurtykite visus reagentus, tačiau stebėkite, kad nepradėtų putoti.
- Pipete įlašinkite po 100 µl į reikiamą šulinėlių skaičių.
- Po 20 µl + teigiamos kontrolės
20 µl w silpnos teigiamos kontrolės
20 µl - neigiamos kontrolės
Pipete įlašinkite 20 µl iš anksto atskiestų mėginių, trumpai pakratykite.
- Uždenkite plokštelę ir 30 min. inkubuokite 37 °C temperatūroje.
- Dekantuoti ir 5 kartus išplauti 300 µl praskiestu plovimo buferiu. Jei reikia, pašalinkite skysčio likučius iškratydami ant celiuliozės.
- 100 µl HRP konjugato vienam šulinėliui.
- Uždenkite plokštelę ir 15 min. inkubuokite 37 °C temperatūroje.
- Dekantuoti ir 5 kartus išplauti 300 µl praskiestu plovimo buferiu. Jei reikia, pašalinkite skysčio likučius iškratydami ant celiuliozės.
- 100 µl substrato vienam šulinėliui.
- Inkubuokite RT 10 min. **saugodami nuo šviesos**.
- 100 µl stabdymo tirpalo vienam šulinėliui, trumpai pakratykite.
- Mikrotitravimo plokštelės fotometru per 30 min. išmatuokite OD esant 450 nm matavimo filtrui ir ≥620 nm pamatiniam filtrui.

Rezultatų įvertinimas

Ribinės vertės nustatymas

Ribinė vertė yra 0,25 absorbcijos vieneto. Pilkoji zona apibrėžiama kaip intervalas nuo 0,8 x ribinės vertės iki ribinės vertės. Serumo mėginiai, kurių absorbcija viršija ribinę vertę, turi būti laikomi reaktyviais anti*Francisella tularensis* antikūnams, o serumo mėginiai, kurių absorbcija yra žemiau pilkosios zonos, turi būti laikomi nereaktyviais. Reaktyvūs serumo mėginiai turi būti tiriami patvirtinamuoju tyrimu. Jei mėginio absorbcija patenka į pilkosios zonos intervalą, reikia iširti kitą serumo mėginį, paimtą 1-2 savaitių intervalu.

Rezultatų aiškinimas

	Išnykimas
Neigiamas	< 0,20
Teigiamas	> 0,25
Pilkoji zona	0,20 - 0,25

Jei mėginių rezultatai patenka į pilkąją zoną, tyrimą reikia pakartoti.

Tyrimo patvirtinimas

Tyrimą galima įvertinti, jei:

- Neigiamos kontrolės absorbcija ≤ 0,20
- Teigiamos kontrolės absorbcija ≥ 1,50

Jei nesilaikoma nurodytų tinkamumo kriterijų, tyrimo metodą reikia kartoti. Apdorojimas turi būti atliekamas pagal naudojimo instrukciją (teisingas reagento paruošimas, teisingas inkubavimo laikas ir temperatūra, kruopštus plovimas). Jei tinkamumo kriterijai neatitinka net po pakartotinio bandymo, reikia susisiekti su gamintoju.

Veikimo savybės

Jautrumas ir specifiškumas

402 serumo mėginių grupė buvo iširta su „Serazym®“ prieš *Francisella tularensis*, lyginant su nepriklausoma, prekyboje esančia ELISA.

n = 402	Teigiamas ELISA testas	ELISA neigiamas
Serazym® ELISA teigiamas	89	1
Serazym® ELISA neigiamas	0	312

Jautrumas: 100,0 %

Specifiškumas: 99,7 %

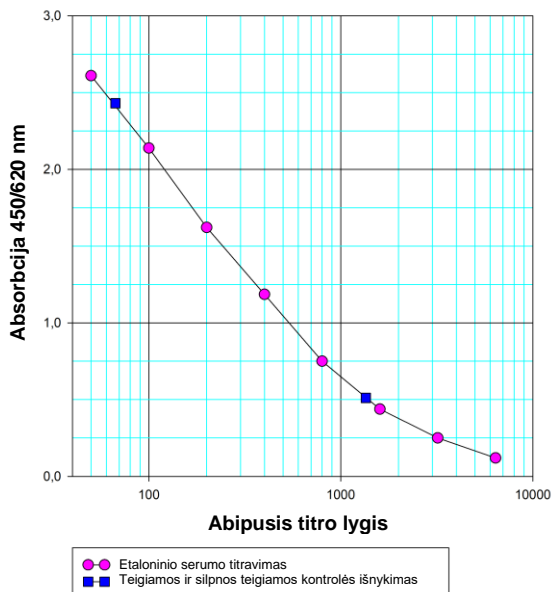
Tikslumas

Norint nustatyti vidinį tyrimo variacijos koeficientą (CV), per vieną bandymą mėginiai buvo matuojami 12 kartų.

Antikūnų teigiamų serumų grupė (prieš praskiedžiant tirą)	\bar{x} OD	VK (%)
1:50	2,713	2,6
1:100	2,286	4,3
1:200	1,971	3,3
1:400	1,606	4,3
1:800	1,172	3,2
1:1600	0,800	4,5
1:3200	0,511	6,0
1:6400	0,334	8,6

Titavimo kreivė

Toliau pateikiamas teigiamo antikūnų prieš *Francisella tularensis* serumo titavimo pavyzdys „Serazym® Francisella tularensis“:



Keitimų istorija

Versija	Skyrius	Pakeitimai
2024-06_v02_lt	Svarbios pastabos	Pirmasis IFU (GAL_E-049_2024-06_v02_de_en) vertimas į lietuvių kalbą paskutinis IFU (GAL_E-049_2024-06_v02_de_en) pakeitimas: Saugos nurodymų pataisymas (stabdomo tirpalas)

Nuorodos

1. Büyüç, F et al. (2016): "The prevalence of tularemia in occupational groups that have contact with animals". Turk J Med Sci, Vol. 46, p. 451-456.
2. Chaignat, V et al. (2014): "Performance of seven serological assays for diagnosing tularemia". BMC Infectious Diseases, vol. 14: 234.
3. Erdem, H et al. (2014): "Evaluation of tularaemia courses: a multicentre study from Turkey". Clin Microbiol Infect, vol. 20, p. 1042-1051.
4. Njeru, J et al. (2017): "Serological evidence of Francisella tularensis in febrile patients seeking treatment at remote hospitals, northeastern Kenya, 2014–2015". New Microbe and New Infect, vol. 19, p. 62–66.
5. Robert Koch Institut (2016): "Tularämie". Epidemiologisches Bulletin Nr. 12
6. Schmitt, P et al (2004): "A novel screening ELISA and a confirmatory Western blot useful for diagnosis and epidemiological studies of tularemia". Epidemiol. Infect., vol. 133, p. 759–766.
7. Yanes, H et al. (2017): "Evaluation of In-House and Commercial Serological Tests for Diagnosis of Human Tularemia". J Clin Microbiol, vol. 56:1.