

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
антигена аденовируса человека

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 21.09.2012
Приказом Росздравнадзора № 1537-Пр/12

Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1654

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ (далее по тексту – набор) предназначен для выявления антигена аденовируса человека методом твердофазного иммуноферментного анализа в фекалиях больных острыми гастроэнтеритами и контактных лиц.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли, или 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе.

Специфическими компонентами набора являются моноклональные антитела к антигенам аденовируса человека, иммобилизованные в лунках планшета; конъюгат моноклональных антител к аденовирусу с пероксидазой хрена и контрольный положительный образец.

Принцип метода заключается во взаимодействии антигена аденовируса с моноклональными антителами, иммобилизованными в лунках полистиролового планшета. Комплекс «антиген–антитело» выявляют с помощью иммуноферментного конъюгата.

Количество связавшегося конъюгата выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы – перекиси водорода и хромогена –

тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации антигена аденовируса в анализируемом образце.

После измерения оптической плотности раствора в лунках на основании рассчитанного значения $ОП_{крит.}$ анализируемые образцы оцениваются как положительные или отрицательные.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными моноклональными антителами к антигену аденовируса человека, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) – буферный раствор, содержащий инактивированный антиген аденовируса человека, готовый для использования – 1 флакон (1,5 мл);
- отрицательный контрольный образец (K^-) – буферный раствор, не содержащий антиген аденовируса человека, готовый для использования – 1 флакон (2,5 мл);
- конъюгат, концентрат – моноклональные антитела к аденовирусу, меченные пероксидазой хрена – 1 флакон (1,5 мл);
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСБ-Т×25) – 1 флакон (28 мл);
- раствор для образцов (РО), концентрат – 1 флакон (20 мл);
- раствор для разведения конъюгата (РРК) – 1 флакон (13 мл);

- субстратный буферный раствор (СБР) – 1 флакон (13 мл);
- тетраметилбензидин (ТМБ), концентрат – 1 флакон (1,0 мл);
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 флакон (12 мл).

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагента – 2 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 16 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность.

Набор должен выявлять антиген аденовируса в реакции иммуноферментного анализа в СОП+ (рег. № 05-2-361) и положительном контрольном образце (K^+); и не выявлять в отрицательном контрольном образце (K^-).

Титр антигена аденовируса в СОП+ должен быть не менее 1:32.

Среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца ($ОП_{ср. K^-}$) не должно превышать 0,2; ОП положительного контрольного образца должно быть не ниже 1,0.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздража-

ющим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 февраля 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113 («Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» от 30.12.1998 г).

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать

дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–655 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5%);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл (погрешность не более 5%);
- промыватель для планшетов автоматический или ручной;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- пробирки вместимостью 1,5 мл;

- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Образцы фекалий человека.

Для выявления антигена аденовируса в фекалиях предварительно приготовить экстракт 20%-ной суспензии фекалий на рабочем растворе для образцов (см. п. 7.5). Образцы фекалий собрать в стерильные флаконы (пробирки) с пробкой вместимостью 10 мл. Фекалии в количестве 1 г ($\frac{1}{4}$ флакона) встряхнуть с 5,0 мл рабочего раствора для образцов до получения гомогенной взвеси, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 30 мин. Исследуют надосадочную жидкость. Для выявления АГ аденовируса можно использовать как свежеприготовленные образцы, так и хранившиеся при температуре от 2 до 8°C в течение 24 часов, либо замороженный при минус 20°C в течение не более 3 месяцев.

Полученные экстракты допускается хранить до анализа не более 24 ч при температуре от 2 до 8°C или до 3 мес при температуре минус 20°C и ниже. При необходимости многократного исследования, экстракты следует разделить на несколько порций, чтобы избежать повторного замораживания.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет с влагопоглотителем, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Положительный и отрицательный контрольные образцы (K^+ и K^-) даны в рабочем разведении и не требуют дополнительного разведения.

7.4. Приготовление промывочного раствора

Внести в мерный цилиндр необходимое количество ФСБ-Т×25 и добавить соответствующее количество дистиллированной воды. При выпадении осадка солей в концентрате необходимо

прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

В таблице приведен расход реагентов в зависимости от количества используемых стрипов.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

7.5. Приготовление рабочего раствора для образцов

Содержимое флакона с концентратом раствора для образцов добавить к 480 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата раствора для образцов и развести дистиллированной водой в соотношении 1:24 (1 часть концентрата на 24 части дистиллированной воды).

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Приготовленный рабочий раствор для разведения образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.6. Приготовление рабочего раствора конъюгата

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента,

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата		Рабочий раствор ТМБ		Промывочный раствор	
	Конъюгат, концентрат, мл	РРК, мл	ТМБ, концентрат, мл	СБР мл	ФСБ-Т, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	0,05	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,10	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,15	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,20	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,25	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,30	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,35	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,40	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,45	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	0,50	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	0,55	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	0,60	12,0	24,0	до 600

используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата и соответствующее количество концентрата конъюгата, тщательно перемешать.

Рабочий раствор конъюгата можно хранить при температуре от 18 до 25°C в течение 3 ч после приготовления.

7.7. Приготовление рабочего раствора тетраметилбензидина

В соответствии с числом используемых стрипов (см таблицу) в отдельный чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента внести необходимое количество субстратного буферного раствора и добавить соответствующее количество концентрата тетраметилбензидина, тщательно перемешать.

Рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при комнатной температуре в течение 3 ч после приготовления в защищенном от света месте.

Внимание! Для работы с раствором ТМБ необходимо использовать только одноразовые наконечники. Посуду, предназначенную для раствора ТМБ, нельзя отмывать с применением синтетических моющих средств, поскольку даже их следы ведут к неконтролируемому окислению ТМБ в ходе реакции. После работы посуду ополоснуть водой, промыть 70% этиловым спиртом и тщательно отмыть дистиллированной водой.

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.8. В две лунки, например, А-1 и В-1, внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-). В одну лунку, например, С-1, внести 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех стрипов планшета.

7.9. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата (см п. 7.6).

Для внесения рабочего раствора конъюгата использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.10. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.11. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.4), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку вносить не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

Внимание! Промывку при помощи автоматического промывателя рекомендуется про-

водить в режиме с переполнением («Overflow») с 5-ю циклами промывки и внесением в лунки по 600–700 мкл промывочного раствора.

7.12. Во все лунки внести по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина (см п. 7.7). Планшет поместить в защищенное от света место и выдержать в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C.

Для внесения рабочего раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.13. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме: основной фильтр – 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать средние значения оптической плотности (ОП) в лунках с отрицательным контрольным образцом (ОП_{ср.}К[–]).

Результаты исследований учитывают только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20;
- значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 1,0.

9.2. Для оценки результатов анализа вычислить критическое значение оптической плотности (ОП_{крит.}) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср.}} \cdot K^{-} + 0,2$$

9.3. Результат анализа считают **положительным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом равно или превышает ОП_{крит.} (ОП_{обр.} ≥ ОП_{крит.}), где ОП_{обр.} – оптическая плотность исследуемого образца.

9.4. Результат анализа считают **отрицательным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом ниже ОП_{крит.} (ОП_{обр.} < ОП_{крит.}).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Набор реагентов Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности (12 мес). Допускается хранение набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

Замораживание компонентов набора не допускается.

Транспортирование наборов должно производиться всеми видами крытого транспорта с соблюдением условий и требований, установленных на данном виде транспорта, при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование набора при температуре до 25°C не более 10 сут.

10.2. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности. В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, раствор для образцов и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- концентрат конъюгата, концентрат тетраметилбензидина, раствор для разведения конъюгата после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора;
- рабочий раствор конъюгата и рабочий раствор тетраметилбензидина можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 3 часов;

- промывочный раствор и рабочий раствор для образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

10.3. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент, СРБ), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

Запрещается использовать реагенты из наборов других фирм-производителей.

**По вопросам, касающимся качества набора
«Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ»,
следует обращаться в АО «Вектор-БЕСТ»**

по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

При динамическом наблюдении пациента для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации антигена аденовируса, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Гарантийные обязательства

Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, ус-

ловий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

2. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами, контактирующими с исследуемыми образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать в соответствии п. 4.7. настоящей инструкции и согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обраще-

нию с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

3. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- не проводите ИФА в присутствии паров кислот, щелочей, альдегидов или пыли, которые могут менять ферментативную активность конъюгатов;

- ферментативная реакция чувствительна к присутствию ионов металлов, поэтому не допускайте контактов каких-либо металлических предметов с конъюгатом и рабочим раствором ТМБ;

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- рабочие поверхности столов, оборудования следует обрабатывать 70% этиловым спиртом (не допускается использование перекиси водорода, хлорсодержащих растворов во время проведения ИФА);

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и рабочего раствора ТМБ;
- перед отбором ТМБ из флакона необходимо протирать конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флаконов с СБР и ТМБ;
- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

- Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.
- Не допускайте высыхания лунок планшета в перерыве между завершением промывки и внесением реагентов.
- Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.
- Следите за состоянием промывочного устройства – регулярно (1 раз в неделю) обрабатывайте шланги и емкости 70% этиловым спиртом.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

4. Диагностическая значимость полученных результатов

Значительная роль в развитии острых диарей принадлежит аденовирусам 40 и 41 серотипов. Они были идентифицированы в 1975 году с помощью электронной микроскопии в образцах фекалий младенцев и детей, страдающих острой кишечной инфекцией (ОКИ). Из-за тропизма к желудочно-кишечному тракту эти два серотипа названы «кишечными» аденовирусами. Доля аденовирусной инфекции в структуре ОКИ составляет от 2 до 38%.

Основной клинической формой ОКИ аденовирусной этиологии является острый гастроэнтерит. Рвота, лихорадка и жидкий стул – наиболее частые клинические проявления аденовирусного гастроэнтерита. При поражении кишечными аденовирусами брыжеечных лимфатических узлов возникает мезаденит, который по своей клинической картине напоминает острую абдоминальную патологию – перитонит или острый аппендицит. Значительное увеличение брыжеечных лимфоузлов может привести к кишечной непроходимости.

Источником инфекции являются больные с острой или латентной аденовирусной инфекцией, чаще поражаются дети в возрасте от 1 года до 7 лет. Инфекция передается воздушно-капельным и фекально-оральным способом. Регистрируется во все сезоны года с пиком выявления как моно-, так и в составе микст-инфекций в осенний период. Аденовирус выделяется из организма больного с фекалиями во внешнюю среду до 1,5 месяцев.

После перенесенной инфекции формируется типоспецифический гуморальный иммунитет, связанный с синтезом сывороточных иммуноглобулинов класса М, А и G и секреторных IgA. Иммунитет не длительный, сохраняется в течение 8–12 месяцев после заболевания.

Лабораторная диагностика инфекции основана на определении вируса, его антигенов, вирусоспецифической ДНК в копроматериале больных с помощью электронной микроскопии, иммуноферментного анализа, цепной полимеразной реакции.

Отсутствие специфической профилактики, легкость инфицирования создают предпосылки для роста заболеваемости аденовирусной инфекцией. Своевременная этиологическая диагностика инфекции способствует быстрому купированию заболевания, выбору адекватной терапии, эффективному проведению профилактических мероприятий.

**5. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов
«Аденовирус-антиген – ИФА – БЕСТ»**

*Использовать только после тщательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- ;
по 100 мкл анализируемых образцов.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл (600–700 мкл в режиме переполнения), 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин, 18–25°C, в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-40.

24.03.16.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»
Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

ВЕКТОР



Набор реагентов
для иммуноферментного выявления
норовирусов геногрупп I и II

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Утверждена 07.11.2014
Приказом Росздравнадзора № 7482

Норовирус-антиген – ИФА – Бест

НАБОР РЕАГЕНТОВ
D-1656

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Набор реагентов «Норовирус-антиген – ИФА – БЕСТ» (далее по тексту – набор) предназначен для выявления антигена норовируса геногрупп I и II методом твердофазного иммуноферментного анализа в фекалиях больных острыми гастроэнтеритами и контактных лиц.

1.2. Набор рассчитан на проведение 96 определений, включая контроли, или 12 независимых постановок по 8 анализов каждая, включая контроли.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

2.1. Принцип метода

Метод определения основан на твердофазном иммуноферментном анализе. В лунках планшета иммобилизованы специфические антитела к антигенам разных генотипов вируса. Во время первой инкубации при добавлении в лунки планшета исследуемого образца и биотинилированных моноклональных антител к норовирусу происходит связывание антител, иммобилизованных на внутренней поверхности лунок, и биотинилированных антител с антигенами норовируса. После промывки во время второй инкубации вносят конъюгат стрептавидин-пероксидазы, который связывается с биотинилированными моноклональными антителами к норовирусу, иммобилизованными в ходе первой инкубации.

Комплекс «антиген–биотинилированное антитело–конъюгат» выявляют цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы–перекиси водорода и хромогена–тетраметилбензидина. Интенсивность окрашивания пропорциональна концентрации антигена норовируса в анализируемых образцах.

2.2. Состав набора

В состав набора входят:

- планшет разборный (12 восьмилуночных стрипов) с иммобилизованными моноклональными антителами к антигену норовируса, готовый для использования – 1 шт.;
- положительный контрольный образец (K^+) – буферный раствор, содержащий рекомбинантный антиген норовируса человека, готовый для использования – 1 фл., 1,5 мл;
- отрицательный контрольный образец (K^-) – буферный раствор, не содержащий антиген норовируса человека, готовый для использования – 1 фл., 2,5 мл;
- конъюгат №1, концентрат (биотинилированные моноклональные антитела к норовирусу) – 1 фл., 1,5 мл;
- конъюгат №2, концентрат (стрептавидин, конъюгированный с пероксидазой хрена) – 1 фл., 1,5 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 1 (PPK №1) – 1 фл., 13 мл;
- раствор для разведения конъюгата № 2 (PPK №2) – 1 фл., 13 мл;

- 25-кратный концентрат фосфатно-солевой буферный раствор с твином (ФСБ-Т×25) – 1 фл., 28 мл;
- раствор для образцов (РО), концентрат – 1 фл., 20 мл;
- раствор тетраметилбензидина (раствор ТМБ), готовый для использования – 1 фл., 13 мл;
- стоп-реагент, готовый для использования – 1 фл., 12 мл.

Набор дополнительно комплектуется:

- пленками для заклеивания планшета – 2 шт.;
- ванночками для реагента – 3 шт.;
- наконечниками для пипеток на 5–200 мкл – 24 шт.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Специфическая активность.

Набор должен выявлять антиген норовируса в реакции иммуноферментного анализа в СОП⁺ (СОП⁺ НВ-антиген (рег. № 05-2-472), аттестованный ОБТК АО «Вектор-Бест») и положительном контрольном образце (К⁺); и не выявлять в отрицательном контрольном образце (К⁻).

Титр антигена норовируса в СОП⁺ должен быть не менее 1:128.

Среднее значение оптической плотности отрицательного контрольного образца (ОП_{ср.} К⁻) не должно превышать 0,2; значение положительно-го контрольного образца (ОП К⁺) должно быть не ниже 1,0.

Диагностическая чувствительность выявления норовирусов I и II геногруппы: клинические

испытания, проведенные на 132 положительных образцах фекалий, показали 100% чувствительность (интервал 98–100%).

Диагностическая специфичность выявления норовирусов I и II геногруппы: клинические испытания, проведенные на 131 отрицательном образце фекалий, показали 100% специфичность (интервал 98–100%).

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 2а (Приказ МЗ РФ от 06.06.2012 № 4н).

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными. Стоп-реагент обладает раздражающим действием. Избегать разбрызгивания и попадания на кожу и слизистые. В случае попадания стоп-реагента на кожу и слизистые необходимо промыть пораженный участок большим количеством проточной воды.

4.3. При работе с исследуемыми образцами следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом. Основные правила работы изложены в «Инструкции по мерам профилактики распространения инфекционных заболеваний при работе в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений», утвержденной Минздравом СССР 17 января 1991 г. и методических указаниях МУ-287-113 «Методические указания по дезин-

фекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

4.4. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки .

4.5. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.6. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с наборами.

4.7. Для дезинфекции посуды и материалов, контактировавших с исследуемыми и контрольными образцами, рекомендуем использовать дезинфицирующие средства, не оказывающие негативного воздействия на качество ИФА, не содержащие активный кислород и хлор, например, комбинированные средства на основе ЧАС, спиртов, третичных аминов. Использование дезинфицирующих средств, содержащих активный кислород и хлор (H_2O_2 , деохлор, хлорамин), приводит к серьезному искажению результатов.

4.8. Утилизацию или уничтожение, дезинфекцию наборов реагентов следует проводить в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» и МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- спектрофотометр, позволяющий проводить измерения оптической плотности растворов в лунках стрипов при длине волны 450 нм и/или в двухволновом режиме при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620–650 нм;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- холодильник бытовой;
- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5 %);
- пипетки полуавтоматические многоканальные со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкостей от 5 до 350 мкл (погрешность не более 5 %);
- промыватель для планшетов автоматический или ручной;
- перчатки резиновые хирургические;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- флаконы вместимостью 15 мл;
- пробирки вместимостью 1,5 мл;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;
- колба вместимостью 1000 мл;
- вода дистиллированная;
- дезинфицирующий раствор.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

6.1. Образцы фекалий человека

Для выявления антигена норовируса в фекалиях предварительно приготовить экстракт 20%-ной суспензии фекалий на рабочем растворе для образцов (см. п. 7.5.). Образцы фекалий собрать в стерильные флаконы (пробирки) с пробкой вместимостью 10 мл. Фекалии в количестве 1 г ($\frac{1}{4}$ флакона) встряхнуть с 5,0 мл рабочего раствора для образцов до получения однородной взвеси, центрифугировать при 3000 об/мин в течение 30 мин. Исследуют надосадочную жидкость. Для выявления АГ норовируса можно использовать как свежеприготовленные образцы, так и хранившиеся при температуре от 2 до 8°C в течение 24 часов, либо замороженный при минус 20°C в течение не более 3 месяцев.

Полученные экстракты допускается хранить до анализа не более 24 ч при температуре от 2 до 8°C или до 3 мес при температуре минус 20°C и ниже. При необходимости многократного исследования, экстракты следует разделить на несколько порций, чтобы избежать повторного замораживания.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

7.1. Перед работой извлечь набор из холодильника, вскрыть упаковку и выдержать все компоненты при температуре от 18 до 25°C не менее 60 мин.

7.2. Подготовка планшета

Непосредственно перед использованием вскрыть пакет с планшетом выше замка. Оставить на рамке необходимое для проведения анализа количество стрипов; остальные стрипы снять с рамки и немедленно поместить вновь в пакет, удалить из него воздух и плотно закрыть замок.

Неиспользованные стрипы после первого вскрытия пакета можно хранить при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности набора.

7.3. Положительный и отрицательный контрольные образцы (K⁺ и K⁻) даны в рабочем разведении и не требуют дополнительного разведения.

7.4. Приготовление промывочного раствора

Содержимое флакона с концентратом ФСБ-Т добавить к 672 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата ФСБ-Т и развести дистиллированной водой в соотношении 1:25 (1 часть концентрата на 25 частей дистиллированной воды).

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Приготовленный промывочный раствор можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

7.5. Приготовление рабочего раствора для образцов

Содержимое флакона с концентратом раствора для образцов добавить к 480 мл дистиллированной воды, тщательно перемешать.

В случае дробного использования набора отобрать из флакона необходимое количество концентрата раствора для образцов и развести дистиллированной водой в соотношении 1:24 (1 часть концентрата на 24 части дистиллированной воды).

При выпадении осадка солей в концентрате необходимо прогреть его при температуре от 30 до 40°C до полного растворения осадка.

Приготовленный рабочий раствор для разведения образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 сут.

7.6. Приготовление рабочего раствора конъюгата № 1

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагентов, входящую в состав набора, используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата № 1 и соответству-

ющее количество концентрата конъюгата № 1, тщательно перемешать.

Рабочий раствор конъюгата № 1 можно хранить при температуре от 18 до 25°C в течение 6 ч после приготовления.

7.7. Приготовление рабочего раствора конъюгата № 2

В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу) в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагентов, входящую в состав набора, используя чистые наконечники, внести необходимое количество раствора для разведения конъюгата № 2 и соответствующее количество концентрата конъюгата № 2, тщательно перемешать.

Рабочий раствор конъюгата № 2 можно хранить при температуре от 18 до 25°C в течение 6 ч после приготовления.

7.8. Подготовка раствора тетраметилбензидина

Раствор ТМБ готов к использованию. В соответствии с числом используемых стрипов (см. таблицу расхода компонентов), отобрать в чистый флакон или в пластиковую ванночку для реагента необходимое количество раствора ТМБ.

Остатки раствора тетраметилбензидина из флакона или ванночки утилизировать *(не сливать во флакон с исходным раствором ТМБ).*

Таблица расхода компонентов набора реагентов

Кол-во используемых стрипов	Рабочий раствор конъюгата №1		Рабочий раствор конъюгата №2		Раствор ТМБ, мл	Промывочный раствор	
	Конъюгат №1, концентрат, мл	РРК №1, мл	Конъюгат №2, концентрат, мл	РРК №2, мл		ФСБ-Т×25, концентрат, мл	Дистил. вода, мл
1	0,1	1,0	0,1	1,0	1,0	2,0	до 50
2	0,2	2,0	0,2	2,0	2,0	4,0	до 100
3	0,3	3,0	0,3	3,0	3,0	6,0	до 150
4	0,4	4,0	0,4	4,0	4,0	8,0	до 200
5	0,5	5,0	0,5	5,0	5,0	10,0	до 250
6	0,6	6,0	0,6	6,0	6,0	12,0	до 300
7	0,7	7,0	0,7	7,0	7,0	14,0	до 350
8	0,8	8,0	0,8	8,0	8,0	16,0	до 400
9	0,9	9,0	0,9	9,0	9,0	18,0	до 450
10	1,0	10,0	1,0	10,0	10,0	20,0	до 500
11	1,1	11,0	1,1	11,0	11,0	22,0	до 550
12	1,2	12,0	1,2	12,0	12,0	24,0	до 600

ПРОВЕДЕНИЕ ИФА

7.9. В лунки стрипа, например А-1, В-1 внести по 100 мкл отрицательного контрольного образца (K^-). В лунку С-1 внести 100 мкл положительного контрольного образца (K^+).

В остальные лунки внести по 100 мкл подготовленных исследуемых образцов.

Время внесения образцов не должно превышать 10 мин при использовании всех стрипов планшета.

7.10. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата № 1 (см п. 7.6).

Для внесения рабочего раствора конъюгата №1 использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.11. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 60 мин при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

7.12. По окончании инкубации снять липкую пленку и поместить ее в сосуд с дезинфицирующим раствором. С помощью промывочного устройства промыть лунки планшета 5 раз промывочным раствором (п. 7.4), чередуя аспирацию и немедленное заполнение лунок каждого стрипа. В каждую лунку внести не менее 400 мкл жидкости в процессе каждого цикла промывки. Время между заполнением и опорожнением лунок должно быть не менее 30 сек. *Необходимо добиваться полного опорожнения лунок после каждого их заполнения.* По окончании промывки остатки влаги из лунок тщательно удалить, постукивая перевернутым планшетом по фильтровальной бумаге.

Внимание! Промывку при помощи автоматического промывателя рекомендуется про-

водить в режиме с переполнением («Overflow») с 5-ю циклами промывки и внесением в лунки по 600–700 мкл промывочного раствора.

7.13. Во все лунки планшета внести по 100 мкл рабочего раствора конъюгата № 2 (см п. 7.7).

Для внесения рабочего раствора конъюгата №2 использовать ванночку для реагентов и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.14. Планшет заклеить пленкой и инкубировать в течение 30 мин при температуре $37\pm 1^{\circ}\text{C}$.

7.15. По окончании инкубации содержимое лунок собрать в сосуд с дезинфицирующим раствором, лунки промыть 5 раз, так как описано в п. 7.12.

7.16. Во все лунки внести по 100 мкл раствора тетраметилбензидина (см п. 7.8). Планшет поместить в защищенное от света место и выдержать в течение 25 мин при температуре от 18 до 25°C .

Для внесения раствора тетраметилбензидина использовать ванночку для реагента и одноразовые наконечники, входящие в состав набора.

7.17. Внести во все лунки по 100 мкл стоп-реагента.

8. РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

8.1. Измерить величину оптической плотности растворов в лунках на спектрофотометре вертикального сканирования в двухволновом режиме:

основной фильтр — 450 нм, референс-фильтр в диапазоне 620–655 нм. Допускается измерение оптической плотности при длине волны 450 нм.

Время между остановкой реакции и измерением оптической плотности не должно превышать 5 мин.

9. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ

9.1. Рассчитать значения оптической плотности (ОП) в лунках с отрицательным контрольным образцом ($\text{ОП}_{\text{ср. К}^-}$) и значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом (ОП К^+).

Результаты исследований учитывают только при соблюдении следующих условий:

- среднее значение ОП в лунках с отрицательным контрольным образцом не более 0,20;
- значение ОП в лунке с положительным контрольным образцом не менее 1,0.

9.2. Для оценки результатов анализа вычислить критическое значение оптической плотности ($\text{ОП}_{\text{крит.}}$) по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит.}} = \text{ОП}_{\text{ср. К}^-} + 0,2$$

9.3. Результат анализа считают **положительным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом равно или превышает $\text{ОП}_{\text{крит.}}$ ($\text{ОП}_{\text{обр.}} \geq \text{ОП}_{\text{крит.}}$).

9.4. Результат анализа считают **отрицательным**, если значение оптической плотности в лунке с исследуемым образцом ниже $\text{ОП}_{\text{крит.}}$ ($\text{ОП}_{\text{обр.}} < \text{ОП}_{\text{крит.}}$).

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

10.1. Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8°C. Допускается транспортирование при температуре до 25°C не более 10 сут. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.2. Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8°C. Замораживание компонентов набора не допускается.

10.3. Срок годности набора реагентов – 12 месяцев со дня выпуска.

10.4. Дробное использование набора может быть реализовано в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора:

- неиспользованные стрипы можно хранить в плотно закрытом пакете при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- положительный и отрицательный контрольные образцы можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- 25-кратный концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином, концентрат раствора для образцов и стоп-реагент после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;
- концентрат конъюгата № 1, концентрат конъюгата № 2; раствор тетраметилбензидина, раствор для

разведения конъюгата № 1 и раствор для разведения конъюгата № 2 после вскрытия флаконов можно хранить в плотно закрытых флаконах при температуре от 2 до 8°C в течение всего срока годности;

- рабочий раствор конъюгата № 1 и рабочий раствор конъюгат № 2 можно хранить при температуре от 18 до 25°C не более 6 часов;
- промывочный раствор и рабочий раствор для образцов можно хранить при температуре от 2 до 8°C не более 5 суток.

10.5. При постановке ИФА нельзя использовать компоненты из наборов разных серий или смешивать их при приготовлении растворов, кроме неспецифических компонентов (ФСБ-Т×25, стоп-реагент), которые взаимозаменяемы во всех наборах АО «Вектор-Бест».

11. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА

11.1. Производитель гарантирует соответствие выпускаемых изделий требованиям нормативной и технической документации.

Безопасность и качество изделия гарантируются в течение всего срока годности.

11.2. Производитель отвечает за недостатки изделия, за исключением дефектов, возникших вследствие нарушения правил пользования, условий транспортирования и хранения, либо действия третьих лиц, либо непреодолимой силы.

11.3. Производитель обязуется за свой счет заменить изделие, технические и функциональ-

ные характеристики (потребительские свойства) которого не соответствуют нормативной и технической документации, если указанные недостатки явились следствием скрытого дефекта материалов или некачественного изготовления изделия производителем.

**По вопросам, касающимся качества набора
«Норовирус-антиген – ИФА – БЕСТ»,
следует обращаться в АО «Вектор-Бест»**

по адресу:

630559, Новосибирская область,
Новосибирский район,
п. Кольцово, а/я 121,
тел. (383) 363-13-46,
E-mail: vbobtk@vector-best.ru

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ.

Набор предназначен для профессионального применения в клинической лабораторной диагностике обученным персоналом.

Требования безопасности к медицинским лабораториям приведены в ГОСТ Р 52905-2007.

Все реагенты наборов, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инактивированы.

Антитела к ВИЧ-1,2 и вирусу гепатита С и HBsAg отсутствуют.

Не применять набор реагентов по назначению после окончания срока годности.

Транспортирование должно проводиться всеми видами крытого транспорта в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида.

Для получения результатов, адекватно отражающих изменение концентрации антигена норовируса, необходимо использовать наборы реагентов одного наименования (одного предприятия-изготовителя).

1. Обеспечение безопасности персонала

Обращение с материалами,
контактирующими с исследуемыми
образцами

Материалы, контактирующие с исследуемыми образцами, следует дезинфицировать согласно МУ-287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения» (утв. департаментом госсанэпиднадзора Минздрава РФ от 30.12.1998).

Порядок утилизации или уничтожения
компонентов набора

При использовании набора образуются отходы классов А, Б и Г, которые классифицируются и уничтожаются (утилизируются) в соответствии с СанПиНом 2.1.7.2790-10 «Санитарно-эпиде-

миологические требования к обращению с медицинскими отходами». Дезинфекцию наборов реагентов следует проводить по МУ 287-113 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

2. Обеспечение получения правильных результатов анализа

Достоверность и воспроизводимость результатов анализа зависят от выполнения следующих основных правил:

- избегайте загрязнения компонентов набора микроорганизмами и химическими примесями, для этого используйте в работе чистую посуду и чистые одноразовые наконечники для каждого реагента, контроля, образца;

- никогда не используйте одну и ту же емкость для конъюгата и раствора ТМБ;

- перед отбором раствора ТМБ из флакона необходимо протереть конус пипетки (внутреннюю и внешнюю поверхности) сначала дистиллированной водой, а затем 70% этиловым спиртом, так как малейшее загрязнение пипеток конъюгатом может привести к контаминации всего содержимого флакона;

- если допущена ошибка при внесении анализируемых образцов, нельзя, опорожнив эту лунку, вносить в нее новый образец; такая лунка бракуется.

Качество промывки лунок планшета играет важную роль для получения правильных результатов анализа:

– Для аспирации анализируемых образцов и последующей промывки рекомендуется использовать автоматическое или ручное промывочное устройство.

– Добивайтесь полного заполнения и опорожнения всех лунок планшета в процессе промывки. Недостаточная аспирация жидкости в процессе промывки может привести к понижению чувствительности и специфичности анализа.

– Для предотвращения засорения игл промывочного устройства в конце рабочего дня обязательно выполните процедуру ополаскивания системы подачи жидкости дистиллированной водой.

3. Оценка результата анализа по коэффициенту позитивности

Результаты анализа можно оценить по коэффициенту позитивности (КП), рассчитывая отношение ОП в лунке с образцом пациента относительно ОП_{крит.}.

Для расчета коэффициента позитивности образцов использовать следующую формулу:

$$КП_{обр.} = \frac{ОП_{обр.}}{ОП_{крит.}}$$

Результат анализа **положительный**, если $KП_{обр.} \geq 1$, где $KП_{обр.}$ – коэффициент позитивности исследуемого образца.

Результат анализа **отрицательный**, если $KП_{обр.} < 1$.

Расчет КП целесообразно проводить для оценки концентрации антигена норовируса в исследуемых образцах и при наблюдении за изменением концентрации антигена норовируса в динамике.

4. Диагностическая значимость полученных результатов

Норовирусная инфекция – острое кишечное заболевание с фекально-оральным и воздушно-капельным путями передачи, вызванное РНК-содержащими норовирусами. По нуклеотидному составу генома норовирусы разделяются на 5 геногрупп: GI, GII, GIII, GIV и GV. Безвредные для человека вирусы относятся к геногруппам I, II и IV. В структуре норовирусной инфекции доминирующая роль принадлежит норовирусам второй геногруппы, которые вызывают 80–90% случаев данного заболевания.

Норовирусы поражают население всех возрастных групп. Вспышки норовирусной инфекции регистрируются среди детей школьного возраста, взрослых и пожилых людей. При спорадической заболеваемости наиболее часто поражаются дети в возрасте до 5-ти лет и пожилые люди.

В структуре ОКИ вирусной этиологии норовирусная инфекция занимает второе место после ротавирусной. Пик заболеваемости приходится на осенне-зимний период. Заболевание крайне заразно: минимальная инфицирующая доза – всего 10–100 вирусных частиц на 1 мл.

Инкубационный период составляет в среднем 12–48 часов. Клиническая картина складывается из симптомов острого гастроэнтерита: тошноты, сильной рвоты, диареи. Заболевание длится, как правило, 2–6 дней; у некоторых лиц оно может протекать бессимптомно.

Выделение вируса из организма максимально с 1-го по 3-й день болезни и продолжается после исчезновения клинических симптомов заболевания в течение 2–8 недель. У пожилых людей и больных с ослабленным иммунитетом период выделения вируса во внешнюю среду может быть дольше (до 6 месяцев).

Иммунитет к норовирусам нестойкий, поэтому нередко случаются рецидивы и повторные вспышки заболевания.

Лабораторная диагностика инфекции основана на определении антигена норовируса в копроматериале больных с помощью иммуноферментного анализа и вирусоспецифической РНК методом ПЦР.

**5. Краткая схема проведения ИФА
для набора реагентов
«Норовирус –антиген – ИФА – Бест»**

*Использовать только после тщательного
ознакомления с инструкцией!*

- Внести:** по 100 мкл K^+ , K^- , анализируемых образцов.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №1.
- Инкубировать:** 60 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл рабочего раствора конъюгата №2.
- Инкубировать:** 30 мин, 37°C.
- Промыть:** промывочным раствором, 400 мкл, 5 раз.
- Внести:** по 100 мкл раствора тетраметилбензидина.
- Инкубировать:** 25 мин при 18–25°C в темноте.
- Внести:** по 100 мкл стоп-реагента.
- Измерить:** ОП при 450 нм / референсная длина волны 620–655 нм.

6. Графические символы

	Номер по каталогу		Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов		Не стерильно
	Код партии		Температурный диапазон
	Изготовитель		Дата изготовления
	Использовать до ...		Обратитесь к инструкции по применению
	Осторожно! Обратитесь к Инструкции по применению	YYYY-MM-DD YYYY-MM	Дата в формате Год-Месяц-День Год-Месяц

Консультацию специалиста по работе с набором можно получить по тел.: (383) 227-75-40.

10.02.16.

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«ВЕКТОР-БЕСТ»
Международные сертификаты
ISO 9001 и ISO 13485

НАБОРЫ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ИФА

Вирусные гепатиты А, В, С, D, Е, G, ТТ;
ВИЧ-инфекция; ИППП; TORCH-инфекции;
герпесвирусные инфекции; беременность;
аутоиммунные, системные, паразитарные,
желудочно-кишечные заболевания;
гормоны; опухолевые и кардиомаркеры;
цитокины, аллергены и др.

***Точная диагностика –
эффективное лечение!***

Наш адрес: 630117, Новосибирск-117, а/я 492
Тел./факс: (383) 227-73-60 (многоканальный)
Тел.: (383) 332-37-10, 332-37-58, 332-36-34,
332-67-49, 332-67-52

E-mail: vbmarket@vector-best.ru

Internet: www.vector-best.ru

Serazym[®] Astrovirus

Enzymimmunoassay zum Nachweis von *Astrovirus* in Stuhlproben

REF E-045  96 REF E-045-A2  2x 96 IVD *In-vitro*-Diagnostikum 



Seramun Diagnostica GmbH · Sprenghagener Straße 1 · 15754 Heidesee · Germany · www.seramun.com
Telefon +49 (0) 33767 79110 · Fax +49 (0) 33767 79199 · info@seramun.com

Einführung

Astroviren wurden 1975 entdeckt und erhielten ihren Namen aufgrund ihrer elektronenmikroskopisch erkennbaren, sternförmigen Struktur. Astroviren gehören zur Familie der *Astroviridae*. Die humanen Astroviren lassen sich in 7 Serotypen unterteilen (1). Astroviren sind neben Rotaviren und Adenoviren weltweit eine der häufigsten Ursachen nicht bakterieller Gastroenteritiden bei Säuglingen und Kleinkindern unter 5 Jahren. Daher besitzen 80% der Kinder zwischen 5 und 10 Jahren Antikörper gegen Astroviren. Durch Astroviren verursachte Gastroenteritiden bei Erwachsenen sowie nosokomiale Infektionen wurden ebenfalls beobachtet (2). Der Krankheitsverlauf ist selbstlimitierend und von kurzer Dauer. Nach einer Inkubationszeit von 1 - 2 Tagen entwickelt sich eine 1 - 4 Tage dauernde Gastroenteritis mit Erbrechen, Diarrhoe, Fieber und abdominalen Schmerzen und nachfolgender Dehydrierung. Astrovirusinfektionen treten zwar das ganze Jahr über, im Winter jedoch vermehrt auf, was sie von den bakteriell bedingten Durchfallerkrankungen mit ihrem Sommer- und Herbstgipfel unterscheidet (3, 4). Astroviren werden fäkal-oral von Mensch zu Mensch oder über kontaminierte Gegenstände bzw. Lebensmittel übertragen. Erkrankte Personen scheiden Astroviren in großen Mengen mit dem Stuhl aus (1, 2). Der Nachweis von Astroviren kann elektronen-mikroskopisch erfolgen, zum anderen kann aber auch das Genom mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) nachgewiesen werden. Für die Routinediagnostik hat sich zwischenzeitlich der Enzymimmunoassay (ELISA) durchgesetzt, der einen schnellen und sicheren Nachweis ermöglicht und darüber hinaus eine automatisierte Durchführung erlaubt (1).

Literatur:

1. Rohwedder, A. (2000): "Virale Gastroenteritiden, Erreger und Diagnostik", Mikrobiologie, 10. Jg. p.121-126.
2. Palombo, E. A. and Bishop, R. F. (1996): "Annual Incidence, Serotype Distribution and Genetic Diversity of Human Astrovirus Isolates from Hospitalized Children in Melbourne, Australia"; Journal of Clinical Microbiology, Vol. 34, No. 7, p. 1750-1753.

3. Cukor, G. and Blacklow, N. R. (1984): "Human Viral Gastroenteritis", Microbiological Reviews, June, Vol. 48 No. 2, p. 157-179.
4. Gaggero, A.; O'Ryan, M. et al. (1998): "Prevalence of Astrovirus Infection among Chilean Children with Acute Gastroenteritis", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 36 No. 12, p. 3691-3693.

Anwendungsbereich

Serazym® Astrovirus ist ein *in-vitro*-Diagnostikum zum direkten Nachweis von *Astrovirus* in Stuhlproben.

Testprinzip

Serazym® Astrovirus ist ein Ein-Schritt Enzymimmunoassay auf der Basis polyklonaler und monoklonaler Antikörper gegen *Astrovirus* Antigene. Verdünnte unbehandelte Stuhlproben und Peroxidase-(POD)-markierte monoklonale anti-Astrovirus-Antikörper werden simultan in die mit polyklonalen anti-Astrovirus Antikörpern beschichteten Vertiefungen der Mikrotitrationsstreifen dosiert. Nach 60 min Inkubation bei Raumtemperatur (RT) werden die ungebundenen Komponenten durch einen Waschschritt entfernt. Im anschließenden 10 minütigen Substratreaktionsschritt erfolgt der Nachweis Festphase-gebundener Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplexe durch Umsetzung der farblosen Substratlösung mit 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) in ein blaues Endprodukt. Diese Reaktion wird durch Zugabe der Stopplösung abgebrochen, wodurch ein Farbumschlag der blauen Lösung zu gelb auftritt. Die optische Dichte (OD) des Endprodukts bei 450 / 620 nm ist zur Konzentration der spezifisch gebundenen Astrovirus-Antigene direkt proportional.

Testkomponenten

			Für 96 Kavitäten	Für 2x 96 Kavitäten
1	WELLS	Mikrotiterplatte beschichtet mit polyklonalen anti-Astrovirus-Antikörpern (Schaf)	12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten Farbmarkierung hellblau vakuumversiegelt mit Trockenbeutel	2x 12 teilbare Streifen zu je 8 Kavitäten Farbmarkierung hellblau vakuumversiegelt mit Trockenbeutel
2	WASHBUF CONC 10x	Waschpuffer, 10-fach	100 ml Konzentrat für 1000 ml Lösung weiße Kappe	2x 100 ml Konzentrat für 2x 1000 ml Lösung weiße Kappe
3	DIL	Verdünnungsmedium	100 ml · gebrauchsfertig gelb gefärbt schwarze Kappe	2x 100 ml · gebrauchsfertig gelb gefärbt schwarze Kappe
4	CONTROL +	Positive Kontrolle <i>Astrovirus</i> reaktive Probe	1,5 ml · gebrauchsfertig blau gefärbt rote Kappe	3,0 ml · gebrauchsfertig blau gefärbt rote Kappe
5	CONTROL -	Negative Kontrolle <i>Astrovirus</i> negative Probe	1,5 ml · gebrauchsfertig blau gefärbt grüne Kappe	3,0 ml · gebrauchsfertig blau gefärbt grüne Kappe
6	CONJ HRP	POD-Konjugat POD-markierte, monoklonale anti-Astrovirus-Antikörper	12 ml · gebrauchsfertig grün gefärbt braune Kappe	24 ml · gebrauchsfertig grün gefärbt braune Kappe
7	SUBSTR TMB	Substrat 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid	15 ml · gebrauchsfertig blaue Kappe	28 ml · gebrauchsfertig blaue Kappe
8	STOP	Stopplösung 0,25 M Schwefelsäure	15 ml · gebrauchsfertig gelbe Kappe	28 ml · gebrauchsfertig gelbe Kappe

Vorbereitung und Lagerung der Proben

Gewinnung und Lagerung

Stuhlproben sollten sofort nach der Entnahme bei 2...8°C gelagert und innerhalb von 72 h untersucht oder eingefroren bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden. Stuhlproben, die bereits im *Serazym*[®] Verdünnungsmedium verdünnt wurden, können bis zu 48 h bei 2...8°C gelagert und anschließend im ELISA untersucht werden.

Vorbereitung und Verwendung

Eingefrorene Stuhlproben zügig auftauen und ebenso wie mit Transportmedien behandelte Proben gut durchmischen. Der *Serazym*[®] Astrovirus kann mit 1 : 6 oder 1 : 11 verdünnten Stuhlsuspensionen durchgeführt werden. Die Verwendung der 1:6-Verdünnung empfiehlt sich, wenn aus derselben Probe auch der *Serazym*[®] Norovirus, der *Serazym*[®] Campylobacter und/oder der *Serazym*[®] Clostridium difficile Toxin A+B durchgeführt werden soll.

Herstellung einer 1 : 11-Probenverdünnung: In ein Reaktionsgefäß 1000 µl Verdünnungsmedium pipettieren. Bei festen oder halbfesten Stuhlproben 100 mg (Durchmesser etwa 2 - 3 mm) mit einem Einmalstäbchen, bei flüssigen Stuhlproben 100 µl in das Probenverdünnungsmedium überführen und sorgfältig mischen. Gegebenenfalls Schwebeteilchen durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge 1 min bei maximaler Drehzahl sedimentieren.

Alternativ: **Herstellung einer 1 : 6-Probenverdünnung:** In ein Reaktionsgefäß 1000 µl Verdünnungsmedium pipettieren. Bei festen oder halbfesten Stuhlproben 200 mg (Durchmesser etwa 4 - 6 mm) mit einem Einmalstäbchen, bei flüssigen Stuhlproben 200 µl in das Probenverdünnungsmedium überführen und sorgfältig mischen. Gegebenenfalls Schwebeteilchen durch Zentrifugation in einer Mikrozentrifuge 1 min bei maximaler Drehzahl sedimentieren.

Für die Testdurchführung zusätzlich benötigte Materialien und Hilfsmittel

Verstellbare Einkanal-Mikropipette · 8-Kanalpipette bzw. Multipipetten mit Pipettenspitzen · 8-Kanal-Handwaschkamm mit Vakuumpumpe und Abfallbehältern oder Mikrotiterplatten-Waschgerät · Mikrotiterplatten-Photometer mit 450 nm Mess- und ≥ 620 nm Referenzfilter · destilliertes oder deionisiertes Wasser · Messzylinder · Teströhrchen (2 ml) für die Probenverdünnung

Vorbereitung und Lagerung der Reagenzien

Testbesteckformat und Haltbarkeit

Ein Testbesteck enthält Reagenzien für 1x 96 oder 2x 96 Bestimmungen. Das komplette Testbesteck mit verschlossenen Reagenzflaschen und Mikrotitrationsstreifen ist bei Lagerung bei 2...8°C bis zum aufgedruckten Verfallsdatum stabil. Alle geöffneten Testbesteckbestandteile sind bei ordnungsgemäßer Lagerung bei 2...8°C mindestens 2 Monate haltbar. Die gebrauchsfertig verdünnte Waschlösung ist bei 2...8°C mindestens 1 Monat verwendbar.

Vorbereitung und Verwendung

Die Mikrotiterplatte mit teilbaren Streifen ist in einem Aluminium-beschichteten 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. Waschpufferkonzentrat (10-fach) 1 + 9 mit destilliertem oder deionisiertem Wasser verdünnen.

Beispiel: 10 ml Waschpufferkonzentrat (2) + 90 ml destilliertes oder deionisiertes Wasser.

Testdurchführung

Proben mit Verdünnungsmedium (3) 1 : 11 oder 1 : 6 verdünnen, z.B. 100 mg oder 100 µl Stuhlprobe + 1,0 ml (1 : 11) bzw. 200 mg oder 200 µl Stuhlprobe + 1,0 ml (1 : 6) Verdünnungsmedium (3). Die Reihenfolge der Pipettierschritte und deren Durchführung im Zeittakt sind einzuhalten.

Beim Waschvorgang dispensierte Waschlösung mindestens 5 Sekunden einwirken lassen und Waschlösungsreste durch gründliches Absaugen oder Ausschlagen der Kavitäten entfernen!

Substrat vor Licht geschützt aufbewahren!

Arbeitsschritte

1. Die Testreagenzien und die benötigte Anzahl an Kavitäten auf Raumtemperatur (RT) erwärmen und alle Reagenzien vor Gebrauch leicht schütteln, Schaumbildung vermeiden.
2. 2 Tropfen (oder 75 µl) **CONJ HRP** POD- Konjugat (6) pro Kavität.
3. Je 75 µl **CONTROL +** Positive Kontrolle (4)
75 µl **CONTROL -** Negative Kontrolle (5)
50 µl **verdünnte Stuhlprobe** pipettieren und kurz schütteln.
4. Platte abkleben und 60 min bei RT inkubieren.
5. Dekantieren und 5 mal mit 300 µl Waschlösung (verdünnt aus (2)) waschen. Restflüssigkeit gegebenenfalls durch Ausschlagen auf Zellstoff entfernen.
6. 2 Tropfen (oder 75 µl) **SUBSTR TMB** Substrat (7) pro Kavität.
7. 10 min lichtgeschützt bei RT inkubieren.
8. 2 Tropfen (oder 75 µl) **STOP** Stopplösung (8) pro Kavität, kurz schütteln.
9. Messen der OD bei 450 nm / ≥ 620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer innerhalb von 30 Minuten.

Berechnung der Ergebnisse

Qualitative Evaluierung

Cut-off Bestimmung: OD Negative Kontrolle + 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 im *Serazym*[®] Astrovirus zu bewerten.

Referenzwert

Serazym® Astrovirus	
Positiv	≥ Cut-off
Negativ	< Cut-off

Aufgrund von Unterschieden im Einsender-Klientel wird empfohlen, dass jedes Labor seine eigenen Referenzbereiche bestimmen sollte. Die genannten Werte sind deshalb nur als Empfehlung zu werten.

Testvalidierung

Der Test kann ausgewertet werden, wenn:

- OD-Mittelwert der Negativen Kontrolle: ≤ 0,15 (manuelle Abarbeitung)
≤ 0,30 (automatische Abarbeitung)
- OD-Mittelwert der Positiven Kontrolle ≥ 1,00

Sind die o. g. Gültigkeitskriterien nicht erfüllt, muss der Testansatz wiederholt werden. Stellen Sie sicher, dass die Abarbeitung strikt gemäß Testanleitung erfolgt (korrekte Reagenzienvorbereitung, korrekte Inkubationszeiten und -temperaturen, sorgfältiges Waschen). Sollten die Gültigkeitskriterien auch nach wiederholtem Testansatz nicht erfüllt sein, kontaktieren Sie bitte den Hersteller.

Grenzen der Methode

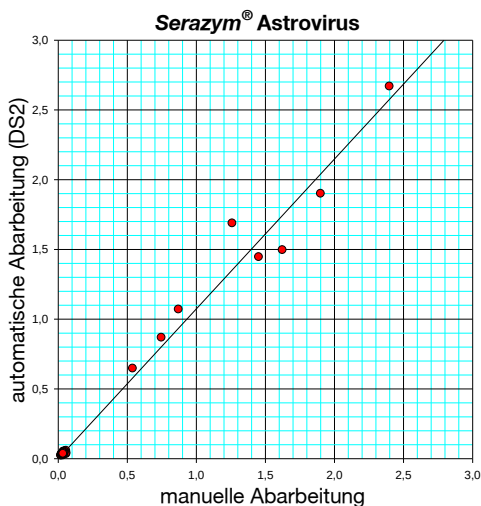
Der qualitative enzymimmunologische Nachweis von *Astrovirus* in Stuhlproben lässt keine Korrelation zwischen gemessener OD und Schweregrad der Infektion zu. Die OD der Proben darf auch nicht mit der OD der positiven Kontrolle in Korrelation gesetzt werden. Kreuzkontaminationen der Testbesteckreagenzien 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. Der Erregernachweis sollte zum Zeitpunkt der akuten Krankheitsphase erfolgen, da dann die Anzahl der ausgeschiedenen Viruspartikel am höchsten ist. Ein negatives Ergebnis im *Astrovirus* ELISA schließt eine *Astrovirus*-Infektion nicht zwangsläufig 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 ELISA-Testergebnisses sollte im Zusammenhang mit der Klinik erfolgen.

Automatische Abarbeitung

Bei Abarbeitung des *Serazym® Astrovirus* auf einem Mikrotitrationsplatten-Vollautomaten (wie z.B. DS2, DSX) 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 max. zulässigen Grenzwertes für die OD der Negativ-Kontrolle auf 0,3 zulässig. Für den Waschprozess ist die Einprogrammierung von Waschpuffer-Einwirkzeiten (mind. 10 sec pro Streifen und Waschschrift) gefolgt von einem Waschschrift mit destilliertem oder demineralisiertem Wasser und 10 sec Einwirkzeit zu empfehlen. Gegebenenfalls kann die Anzahl der Waschschriffe von 5x auf 7x bis 8x erhöht werden.

Korrelation: manuelle – automatische Abarbeitung

Bei der parallelen Untersuchung von 96 Stuhlproben in manueller und automatischer Abarbeitung (DS2, Dynex Technologies) konnte ein Korrelationskoeffizient von 0,993 ermittelt werden.



Leistungsmerkmale

Präzision

Intra-Assay Variationskoeffizient (VK) im *Serazym®* Astrovirus aus 8-fach Bestimmungen von Proben:

Probe	Extinktions-Mittelwert	Standard-abweichung	VK (%)
1	1,667	0,148	8,9
2	0,994	0,063	6,4
3	0,443	0,027	6,1
4	0,185	0,018	9,8

Inter-Assay Variationskoeffizient (VK) im *Serazym®* Astrovirus in 6 unterschiedlichen Ansätzen aus 8-fach Bestimmungen von Proben:

Probe	Extinktions-Mittelwert	Standard-abweichung	VK (%)
1	1,853	0,071	3,8
2	1,019	0,059	5,8
3	0,583	0,069	11,9
4	0,350	0,034	9,7

Untere Nachweisgrenze

Die untere Nachweisgrenze von Astrovirus-Antigen im *Serazym®* Astrovirus wurde durch Titration von gereinigtem Astrovirus-Antigen mit 6 ng / ml bestimmt.

Spezifität und Sensitivität

Im Rahmen einer Studie wurden insgesamt 98 Stuhlproben parallel im *Serazym®* Astrovirus und einem anderen kommerziellen ELISA untersucht.

	Vergleichs-ELISA positiv	Vergleichs-ELISA negativ
<i>Serazym®</i> ELISA positiv	49	0
<i>Serazym®</i> ELISA negativ	2	47

Spezifität: 100% Sensitivität: 96%

Kreuzreaktivität

Stuhlproben, die für nachfolgend aufgeführte Erreger positiv getestet wurden, zeigten bei Untersuchung im *Serazym*® Astrovirus keine Kreuzreaktivität:

Rotavirus (n = 10), *Adenovirus* (n = 20), *Norovirus* (n = 31), *Clostridium difficile* (n = 11), *Campylobacter jejuni* (n = 7), *Campylobacter coli* (n = 1), *Salmonella enteritidis* (n = 18), *Giardia lamblia* (n=1).

Negative Stuhlsuspensionen wurden mit folgenden Mikroorganismen mit einer Keimzahl von $\geq 10^8$ Kolonie bildenden Einheiten pro ml aufgestockt und im *Serazym*® ELISA negativ getestet (OD 450 / 620 nm < Cut-off):

<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>	Klinisches Isolat
<i>Yersinia enterocolitica</i> Serotyp <i>O3, O9</i>	Klinische Isolate

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 (5 mg/ml), Hylak® N (5%), Immodium® akut duo (0,2/12,5 mg/ml), Iberogast® (5%), 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), Simagel® (2 mg/ml), Stearinsäure (20%).

* Hylak® N (Milchsäure-haltiges Präparat gegen Verdauungsbeschwerden) kann bei Zumischung von 5% (v/v) zu Astrovirus positiven Stuhlsuspensionen zu einer Verringerung der OD-Werte führen.

Allgemeine Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Dieses Testbesteck ist nur zum *in-vitro* Gebrauch bestimmt und darf nur von geschultem Laborfachpersonal durchgeführt werden. Mikrotiterplatten und Reagenzien aus beschädigten Verpackungen bzw. Flaschen dürfen nicht verwendet werden. Die Arbeitsanleitung ist strikt einzuhalten. Das Testbesteck oder seine geöffneten Reagenzien sind nur innerhalb der angegebenen Haltbarkeitsfristen zu verwenden. **Das Mischen von Testbesteckkomponenten verschiedener Chargen ist nicht erlaubt mit Ausnahme von Verdünnungsmedium, Waschpuffer, TMB/Substratlösung und Stopplösung.**

Das Verdünnungsmedium, der Waschpuffer, die TMB/Substratlösung und Stopplösung können darüber hinaus Parameter-übergreifend 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), *H. pylori* 2nd Gen. (E-114), *Entamoeba histolytica* (E-018), *Cryptosporidium parvum* (E-039), *Giardia lamblia* (E-038) und *Giardia* (E-106) eingesetzt werden.

Die Komplettierung eines geöffneten Testbestecks mit Reagenzien anderer Hersteller ist nicht erlaubt. Einige Reagenzien können Biozide als Konservierungsmittel enthalten. Nähere Angaben sind dem Sicherheitsdatenblatt zu entnehmen. Reagenzien nicht verschlucken und Kontakt mit Schleimhäuten vermeiden. Die Lagertemperatur der Reagenzien bis zur Wiederverwendung beträgt 2...8°C. Beim Umgang mit den Komponenten des Testbestecks sowie mit den Patientenproben und Kontrollen sind die Vorschriften zur Unfallverhütung beim Umgang mit potentiell infektiösem Material und gefährlichen Chemikalien zu beachten.

Insbesondere sind folgende Regeln einzuhalten:

Nicht essen, trinken oder rauchen!

Nie mit dem Mund pipettieren!

Handschuhe zur Vermeidung von Kontakt mit den Reagenzien und Proben tragen!

Sicherheitshinweise zu den einzelnen Testkomponenten beachten!



Änderungshistorie

Version	Abschnitt	Änderungen
2020-07-21	Testkomponenten	Korrektur
	Testdurchführung	Aktualisierung
	Allgemeine Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen	Aktualisierung
	Änderungshistorie	Einführung des Abschnittes "Änderungshistorie"

Inkubationsschema *Serazym*[®] Astrovirus (E-045)

- 

1. 2 Tropfen (oder 75 µl) **CONJ HRP** (6)

+

75 µl **CONTROL +** (4)

75 µl **CONTROL -** (5)

50 µl **verdünnte Stuhlprobe** pipettieren, kurz schütteln

60 min Inkubation (Raumtemperatur)



5 x Waschen mit Waschlösung

- 

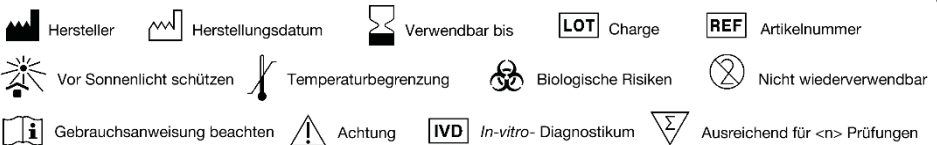
2. 2 Tropfen (oder 75 µl) **SUBSTR TMB** (7)

10 min Inkubation (Raumtemperatur, lichtgeschützt)

- 

3. 2 Tropfen (oder 75 µl) **STOP** (8)

Messung der OD bei 450 / ≥ 620 nm



Serazym[®] Astrovirus

Enzyme immunoassay for detection of *Astrovirus* in faecal samples

REF E-045 ▽ 96 REF E-045-A2 ▽ 2x 96 IVD *In-vitro*-diagnostic medical device CE



Seramun Diagnostica GmbH · Spreehagener Straße 1 · 15754 Heidesee · Germany · www.seramun.com
phone +49 (0) 33767 79110 · fax +49 (0) 33767 79199 · info@seramun.com

Introduction

Astrovirus was firstly described in 1975 and named according to its star-shaped structure visible under the electron microscope. *Astrovirus* belongs to the family *Astroviridae*. Human *Astroviruses* are subdivided into 7 serotypes (1). Together with Rotavirus and Adenovirus *Astrovirus* is one of the most common causes of non-bacterial gastroenteritis in children under 5 years of age all over the world. Thus 80% of children between 5 and 10 years of age are anti-Astrovirus-antibody positive. *Astrovirus* caused gastroenteritis in adults and nosocomial infections are observed as well (2). The course of the disease is usually self-limiting and of short duration. After the incubation time of 1 - 2 days a 1 - 4 days lasting gastroenteritis develops accompanied by vomiting, diarrhea, fever and abdominal pain finally causing dehydration. Although occurring all over the year *Astrovirus* infections are mainly observed during the winter months (3, 4). *Astrovirus* infections are spread via faecal-oral transmission from person to person or via contaminated things or food. Infected persons excrete high amounts of *Astrovirus* particles with their faeces (1, 2). The detection of *Astrovirus* may be performed by electron microscopy or by molecular biology techniques such as polymerase chain reaction (PCR). Meanwhile immunological methods like enzyme immunoassay have established as preferential methods for routine laboratory diagnosis since these methods are fast, safe and automation is possible (1).

References:

1. Rohwedder, A. (2000): "Virale Gastroenteritiden, Erreger und Diagnostik", Mikrobiologe, 10. Jg. p.121-126.
2. Palombo, E. A. and Bishop, R. F. (1996): "Annual Incidence, Serotype Distribution and Genetic Diversity of Human Astrovirus Isolates from Hospitalized Children in Melbourne, Australia"; Journal of Clinical Microbiology, Vol. 34, No. 7, p. 1750-1753.
3. Cukor, G. and Blacklow, N. R. (1984): "Human Viral Gastroenteritis", Microbiological Reviews, June, Vol. 48 No. 2, p. 157-179.

4. Gaggero, A.; O’Ryan, M. et al. (1998): “Prevalence of Astrovirus Infection among Chilean Children with Acute Gastroenteritis”, Journal of Clinical Microbiology, Vol. 36 No. 12, p. 3691-3693.

Intended use

Serazym® Astrovirus is an *in-vitro*-diagnostic medical device for direct detection of *Astrovirus* in faecal samples.

Principle of the test

Serazym® Astrovirus is a one-step enzyme immunoassay on the basis of polyclonal and monoclonal antibodies against *Astrovirus* antigens. Diluted stool specimens and horseradish peroxidase (HRP) labelled monoclonal anti-Astrovirus-antibodies are dispensed simultaneously into the wells of a microtitration plate coated with polyclonal anti-Astrovirus-antibodies. After an incubation time of 60 min at room temperature (RT) unbound components are removed by a washing step. HRP converts the subsequently added colourless substrate solution of 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine (TMB) within a 10 min reaction time at room temperature protected from light into a blue product. The enzyme reaction is terminated by sulphuric acid dispensed into the wells turning the solution from blue to yellow. The optical density (OD) of the solution read at 450 / $\geq$ 620 nm is directly proportional to the specifically bound amount of *Astrovirus*.

Test components

			For 96 Wells	For 2x 96 Wells
1	WELLS	Microtitration plate coated with polyclonal anti-Astrovirus-antibodies (sheep)	12 single breakable 8-well strips colour coding light blue vacuum-sealed with desiccant	2x 12 single breakable 8-well strips colour coding light blue vacuum-sealed with desiccant
2	WASHBUF CONC 10x	Wash buffer, 10-fold	100 ml concentrate for 1000 ml solution white cap	2x 100 ml concentrate for 2x 1000 ml solution white cap
3	DIL	Sample diluent	100 ml · ready to use coloured yellow black cap	2x 100 ml · ready to use coloured yellow black cap
4	CONTROL +	Positive control <i>Astrovirus</i> reactive sample	1.5 ml · ready to use coloured blue red cap	3.0 ml · ready to use coloured blue red cap
5	CONTROL -	Negative control <i>Astrovirus</i> negative sample	1.5 ml · ready to use coloured blue green cap	3.0 ml · ready to use coloured blue green cap
6	CONJ HRP	HRP-conjugate HRP-labelled, monoclonal anti-Astrovirus-antibodies	12 ml · ready to use coloured green brown cap	24 ml · ready to use coloured green brown cap
7	SUBSTR TMB	Substrate 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidine and hydrogen peroxide	15 ml · ready to use blue cap	28 ml · ready to use blue cap
8	STOP	Stop solution 0.25 M sulphuric acid	15 ml · ready to use yellow cap	28 ml · ready to use yellow cap

Preparation and storage of samples

Collection and storage

Stool samples should be stored at 2...8°C immediately after collection and processed within 72 hours. Longer storage is possible at -20°C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided. Stool samples already diluted with the *Serazym*[®] sample diluent can be stored for up to 48 h at 2...8°C before testing in the ELISA.

Preparation

Quickly thaw frozen samples. Warm samples to room temperature and mix well.

The *Serazym*[®] Astrovirus can be performed with 1 : 6 or 1 : 11 diluted specimens. In case of additional testing of the same sample in the *Serazym*[®] Norovirus, the *Serazym*[®] Campylobacter or the *Serazym*[®] Clostridium difficile Toxin A+B the 1 : 6 dilution is recommended.

Preparation of a 1 : 11 sample dilution: Pipette 1000 µl of sample diluent into a clean tube. Using a disposable stirring rod transfer about 100 mg (diameter about 2 - 3 mm) of faeces if solid or pipette 100 µl if liquid into the tube and suspend thoroughly. If necessary, sediment floating particles by a centrifugation step with a micro centrifuge for one min at maximum speed.

Preparation of a 1 : 6 sample dilution: Pipette 1000 µl of sample diluent into a clean tube. Using a disposable stirring rod transfer about 200 mg (diameter about 4 - 6 mm) of faeces if solid or pipette 200 µl if liquid into the tube and suspend thoroughly. If necessary, sediment floating particles by a centrifugation step with a micro centrifuge for one min at maximum speed.

Materials required but not provided

Micropipettes · multi-channel pipette or multi-pipette · Reagent container for multi-channel pipette · 8-channel wash comb with vacuum pump and waste bottle or microplate washer · microplate reader with optical filters of 450 nm for measurement and ≥ 620 nm for reference · distilled or deionized water · glassware · tubes (2 ml) for sample preparation

Preparation and storage of reagents

Kit size and expiry

One kit is designed for 1x 96 or 2x 96 determinations. The expiry date of each component is reported on its respective label, that of the complete kit on the outer box label. Upon receipt, all test components have to be kept at 2...8°C, preferably in the original kit box. After opening all kit components are stable for at least 2 months, provided proper storage. The ready to use wash solution can be used for at least 30 days when stored at 2...8°C.

Reagent preparation

Allow all components to reach room temperature prior to use in the assay. The microtitration plate is vacuum-sealed in a foil with desiccant. The plate consists of a frame and strips with breakable wells. Allow the sealed plate to reach room temperature before opening. Unused wells should be stored refrigerated and protected from moisture in the original cover carefully resealed. Prepare a sufficient amount of wash solution by diluting the 10-fold concentrated wash buffer 1 + 9 with distilled or deionized water.

For Example: 10 ml wash buffer concentrate (2) + 90 ml distilled or deionized water.

Assay procedure

Dilute samples with sample diluent (3) 1 : 11 or 1 : 6, e.g. 100 mg or 100 µl stool + 1.0 ml (1 : 11) sample diluent (3) or 200 mg or 200 µl stool + 1.0 ml (1 : 6) sample diluent (3).

Avoid any time shift during dispensing of reagents and samples.

Make sure the soak time of the wash buffer in the wells is at least 5 seconds per wash cycle and that the remaining fluid is completely drained in every single wash cycle!

Avoid light exposure of the TMB substrate solution!

Working steps

1. Warm all reagents to room temperature (RT) before use.
Mix gently without causing foam.
2. Dispense 2 drops (or 75 µl) **CONJ HRP** HRP-conjugate (6) per well and
3. Pipette: 75 µl **CONTROL +** positive control (4)
75 µl **CONTROL -** negative control (5)
50 µl **diluted sample**, mix gently.
4. Cover plate and incubate for 60 min at RT.
5. Decant, then wash each well 5x with 300 µl wash solution (diluted from (2)) and tap dry onto absorbent paper if necessary.
6. Dispense 2 drops (or 75 µl) **SUBSTR TMB** substrate (7) per well.
7. Incubate for 10 min at RT protected from light.
8. Dispense 2 drops (or 75 µl) **STOP** stop solution (8) per well, mix gently.
9. Read OD at 450 nm / ≥ 620 nm with a microplate reader within 30 min after reaction stop.

Result interpretation

Qualitative evaluation

Cut-off determination: OD negative control + 0.10

Samples with OD values equal with or higher than the cut-off are considered positive, samples with OD values below the cut-off are considered negative for *Astrovirus* antigen.

Reference values

It is recommended that each laboratory establishes its own normal and pathological reference ranges as usually done for other diagnostic parameters, too. Therefore, the mentioned reference values provide a guide only to values which might be expected.

Test validity

The test run is valid if:

- the mean OD of the negative control is ≤ 0.15 (manual test performance)
 ≤ 0.30 (automatic test performance)
- the mean OD of the positive control is ≥ 1.00

If the above-mentioned quality criteria are not met, repeat the test and make sure that the test procedure is followed correctly (incubation times and temperatures, sample and wash buffer dilution, wash steps etc.). In case of repeated failure of the quality criteria contact your supplier.

Limitations of the procedure

There is no correlation between measured absorbance and seriousness of the infection. It is also not allowed to correlate absorbances of the samples with that of the positive control. Cross contamination of reagents and samples can produce false positive results. Incorrect dilutions, not sufficiently homogenized samples or solid particles after centrifugation of the suspension can cause false negative as well as false positive results. A negative test result not necessarily excludes an *Astrovirus* infection. Inhomogeneous virus distribution in the sample can cause false negative results. The investigation of samples that were taken beyond the acute phase of the disease can cause false negative results, because the number of virus particles has decreased under the detection limit of the test. It is therefore recommended to take samples within the acute phase of the disease where a maximum number of excreted virus particles are to be expected. A final interpretation of the test results should consider clinical findings as well.

Automatic Processing

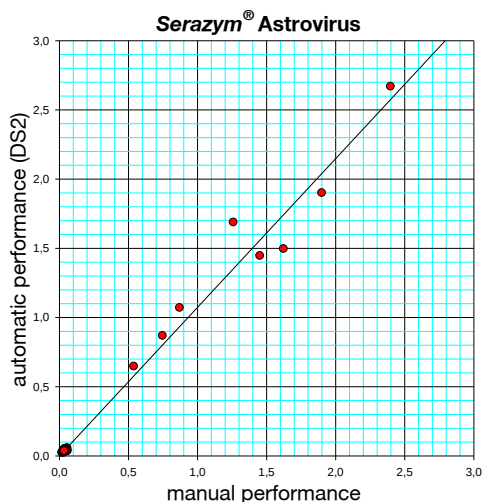
Performing the *Serazym*[®] Astrovirus on fully automated microplate processors (e.g. DS2, DSX) may cause elevated absorbances in comparison to the manual procedure due to individual differences concerning wash procedures and general technical specifications of the equipment. In these cases a maximum value of 0.3 absorbance units is permissible for the negative control. It is recommended to

<i>Serazym</i>[®] Astrovirus	
Positive	$\geq$ Cut-off
Negative	$<$ Cut-off

use a wash procedure including 10 seconds soak time per strip and wash step followed by a wash step with distilled or deionized water with 10 seconds of soak time after the final wash step of each wash cycle. If necessary, the number of washing steps can be enhanced from 5x to 7x - 8x.

Correlation: manual – automatic processing

A panel of 96 stool specimens was investigated in parallel by manual and automatic processing method (DS2, Dynex Technologies) resp. The correlation was calculated with $r = 0.993$.



Performance characteristics

Precision

Intra-assay coefficient of variation (CV) in the *Serazym®* Astrovirus from 8-fold determinations of samples:

sample	mean absorbance	standard deviation	CV (%)
1	1.667	0.148	8.9
2	0.994	0.063	6.4
3	0.443	0.027	6.1
4	0.185	0.018	9.8

Inter-assay coefficient of variation (CV) in the *Serazym®* Astrovirus in 6 different test runs from 8-fold determinations of samples:

sample	mean absorbance	standard deviation	CV (%)
1	1.853	0.071	3.8
2	1.019	0.059	5.8
3	0.583	0.069	11.9
4	0.350	0.034	9.7

Lower detection limit

The lower detection limit of *Astrovirus* antigen in the *Serazym®* Astrovirus was determined by titration of purified *Astrovirus*-antigen. Lower detection limit: 6 ng / ml.

Specificity and sensitivity

A total of 98 stool samples were investigated in parallel in the *Serazym®* Astrovirus and in another commercially available ELISA.

	comparative ELISA positive	comparative ELISA negative
<i>Serazym®</i> ELISA positive	49	0
<i>Serazym®</i> ELISA negative	2	47

Specificity: 100% Sensitivity: 96%

Cross reactivity

Stool samples positive for one of the subsequent pathogens have been tested with the *Serazym*® Astrovirus and showed no cross reactivity:

Rotavirus (n = 10), *Adenovirus* (n = 20), *Norovirus* (n = 31), *Clostridium difficile* (n = 11), *Campylobacter jejuni* (n = 7), *Campylobacter coli* (n = 1), *Salmonella enteritidis* (n = 18), *Giardia lamblia* (n = 1).

Negative stool specimens have been spiked with $\geq 10^8$ colony forming units of the following microorganisms and tested negative with the *Serazym*® ELISA (OD 450 / 620 nm < Cut-off):

<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> Sero var <i>enteritidis</i>	(ATCC 13076)
<i>Salmonella enterica</i> Sero var <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>	Clinical isolate
<i>Yersinia enterocolitica</i> Serotyp <i>O3, O9</i>	Clinical isolates

Interference

None of the following substances added to positive and negative stool samples showed a significant impact on the test result:

barium sulphate (5%), Buscopan® (2 mg/ml), cyclamate (5%), Diclofenac (2 mg/ml), haemoglobine (5 mg/ml), Hylak® N (5%), Immodium® akut duo (0.2/12.5 mg/ml), Iberogast® (5%), 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), Simagel® (2 mg/ml), stearic acid (20%).

* The addition of 5% (v/v) Hylak® N (lactic acid containing preparation against digestive complaints) to Astrovirus positive stool suspensions may decrease OD values.

Common advices and precautions

This kit is for *in-vitro* use only. Follow the working instructions carefully. The kit should be performed by trained technical staff only. Do not use reagents from damaged packages or bottles. The expiration dates stated on the respective labels are to be observed. **Do not use or mix reagents from different lots except for sample diluent, wash buffer, TMB/substrate solution and stop solution.**

The sample diluent, wash buffer, TMB/substrate solution and stop solution are universally applicable for the *Serazym*[®] stool ELISA 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), H. pylori 2nd Gen. (E-114), Entamoeba histolytica (E-018), Cryptosporidium parvum (E-039), Giardia lamblia (E-038) and Giardia (E-106).

Do not use reagents from other manufacturers. Avoid time shift during dispensing of reagents. All reagents should be kept at 2...8°C before use. Some of the reagents may contain biocides as preservative. Further information can be found in the safety data sheet. They must not be swallowed or allowed to come into contact with skin or mucous membranes. Handle all components and all patient samples as if potentially hazardous. Since the kit contains potentially hazardous materials, the following precautions should generally be observed:

Do not smoke, eat or drink while handling kit material!

Always use protective gloves!

Never pipette material by mouth!

Note safety precautions of the single test components!



History of Changes

Version	Section	Modifications
2020-07-21	Intended use	Correction
	Test Components	Correction
	Assay Procedure	Update
	Common Advices and Precautions	Update
	History of Changes	New section "History of Changes"

Incubation scheme *Serazym*[®] Astrovirus (E-045)

1.  2 drops (or 75 µl) **CONJ HRP** (6)
 +
 pipette
 75 µl **CONTROL** + (4)
 75 µl **CONTROL** - (5)
 50 µl **stool sample**, mix gently
 60 min incubation (room temperature)
 5 x wash with wash solution
2.  2 drops (or 75 µl) **SUBSTR TMB** (7)
 10 min incubation (room temperature) protected from light
3.  2 drops (or 75 µl) **STOP** (8)
 Read OD at 450 / $\geq$ 620 nm



Manufacturer



Date of manufacture



Use by



Batch code



Catalog number



Keep away from sunlight



Temperature limits



Biological risks



Do not reuse



Consult instructions for use



Caution



In-vitro-diagnostic medical device



Contains sufficient for <n> tests

