

SERION ELISA *classic*

Yersinia IgA/IgG/IgM



Instructions - English

(Version V 138.15)

virion\serion

	<u>Updates</u>
Current version No.:	V 138.15
Previous version:	V 138.14
Update in section:	8.2; 9.1

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

CONTENTS

- 1 INTENDED USE
- 2 DIAGNOSTIC RELEVANCE
- 3 TEST PRINCIPLE SERION ELISA *classic*
- 4 KIT COMPONENTS
- 5 MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED
- 6 STORAGE AND STABILITY
- 7 TEST PROCEDURE SERION ELISA *classic*
 - 7.1 General information
 - 7.2 Sample Preparation and Storage
 - 7.3 Preparation of Kit Reagents
 - 7.4 Overview - Test Procedure
 - 7.5 Manual Test Procedure
 - 7.6 Automated Test Procedure
 - 7.7 SERION ELISA *controls* (external Positive Control / Accuracy Control)
- 8 TEST EVALUATION
 - 8.1 SERION ELISA *classic*
 - 8.2 Automated Evaluation / Software
 - 8.3 Borderline Ranges
 - 8.4 Limits of Quantification
 - 8.5 Qualitative Evaluation with SERION ELISA *classic*
 - 8.6 Criteria of Validity
 - 8.7 Interpretation of Results
 - 8.8 Reference Range of Healthy Individuals
- 9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS
 - 9.1 Sensitivity and Specificity
 - 9.2 Reproducibility
 - 9.3 Cross-reactivities
 - 9.4 Interfering substances
- 10 SAFETY MEASURES
 - 10.1 Statements of Warning
 - 10.2 Disposal
 - 10.3 Limitation of the test
- 11 LITERATUR / REFERENCES / RÉFÉRENCES / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA / REFERÊNCIAS / ΑΝΑΦΟΡΕΣ / ΟΔΚΑΖΥ / BIBLIOGRAFIA / ΛΙΤΕΡΑΤΥΡΑ / REFERENCER / REFERENSER / REFERENCIE / REFERENCE / REFERANSER / REFERENCIÁK

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

Enzyme-immunoassay for determination of human antibodies

for *in vitro* diagnostic use

18.2. SERION ELISA *classic* Yersinia IgA yra reagentai, skirti Jersinijozės IgA antikūnų nustatymui IFA metodu 96 šulinėlių mikroplokštelių formatu kraujo serume.

SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgA	Order Nr.: ESR138A
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgG	Order Nr.: ESR138G
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgM	Order Nr.: ESR138M

18.1. SERION ELISA *classic* Yersinia IgG yra reagentai, skirti Jersinijozės IgG antikūnų nustatymui IFA metodu 96 šulinėlių mikroplokštelių formatu kraujo serume.

1 INTENDED USE

The SERION ELISA *classic* Yersinia IgA, IgG and IgM tests are quantitative and qualitative immunoassays for the detection of human antibodies in serum or plasma directed against plasmid encoded virulence markers of *Yersinia*. The SERION ELISA *classic* Yersinia are recommended for the differentiation of acute and recent infections in case of gastrointestinal diseases and reactive arthritis.

2 DIAGNOSTIC RELEVANCE

Y. enterocolitica and *Y. pseudotuberculosis* are important human pathogens which are responsible for a range of intestinal syndromes e.g. enteritis, diarrhoeae, pseudoappendicitis and, in immune compromised patients, haemopathies and sepsis. Post infection complications, such as reactive arthritis, *erythema nodosum* and other rheumatic diseases, may occur. These complications are often apparent in individuals carrying the HLA-B27 gene.

Yersinia are ubiquitous, but primarily distributed in temperate and subtropical areas. They are found in the intestinal tracts and faeces of warm blooded animals (wild and domesticated). Transmission is primarily through contaminated foodstuffs.

The virulence of the bacterium is dependent upon plasmid-encoded proteins with a molecular weight of 23 – 51 kD. These virulence-associated proteins, referred to as YOPs (Yersinia Outer Proteins) have been characterized and are accepted as important diagnostic markers. The Yersinia outer proteins are genus-specific so antibodies against all relevant serotypes are detected.

The dynamics of the various antibody classes are important for the differential diagnosis of rheumatoid disease such as rheumatoid arthritis.

While a *Yersinia* infection results in production of IgG antibodies which may remain elevated for several years, the YOP-specific IgA and IgM responses are more fleeting and in a normal infection fall off within a few months. By contrast, in the case of post-infection complications the IgA titer remains elevated (possibly for years), often at a very high level, while the IgM titer drops off within a few months.

18.1. SERION ELISA classic *Yersinia* IgG yra reagentai, skirti Jersinijozės IgG antikūnų nustatymui IFA metodu 96 šulinėlių mikroplokštelių formatu kraujo serume.

The test systems are used for the detection of antibodies against all *Yersinia* serovars pathogenic for humans.

3 TEST PRINCIPLE SERION ELISA *classic*

The ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) is an immunoassay, which is particularly suited to the determination of antibodies in the field of infectious serology. The reaction is based on the specific interaction of antibodies with their corresponding antigen. The test strips of the SERION ELISA *classic* microtiter plate are coated with specific antigens of the pathogen of interest. If antibodies in the patient's serum sample are present, they bind to the fixed antigen. A secondary antibody, which has been conjugated with the enzyme alkaline phosphatase, detects and binds to the immune complex. The colourless substrate p-nitrophenylphosphate is then converted into the coloured product p-nitrophenol. The signal intensity of this reaction product is proportional to the concentration of the analyte in the sample and is measured photometrically.

18.2. SERION ELISA classic *Yersinia* IgA yra reagentai, skirti Jersinijozės IgA antikūnų nustatymui IFA metodu 96 šulinėlių mikroplokštelių formatu kraujo serume.

4 KIT COMPONENTS

Test Components	Pieces / Volume
Break apart microtiter test strips each with eight antigen coated single wells. (altogether 96) [MTP] , 1 frame. The coating material is inactivated.	12 pieces
Standard serum (ready-to-use) [STD] , Human serum in protein containing phosphate buffer; negative for anti-HIV Ab, HBs-Ag (Hepatitis B-Virus surface antigen) and anti-HCV Ab; preservative: < 0.1 % sodium azide; colouring: Amaranth O	2 x 2 ml
Negative control serum (ready-to-use) [NEG] , Human serum in protein containing phosphate buffer; negative for anti-HIV Ab, HBs-Ag (Hepatitis B-Virus surface antigen) and anti-HCV Ab; preservative: < 0.1 % sodium azide; colouring: Lissamin Green V	2 ml
Anti-human IgA, IgG or IgM conjugate (ready-to-use) [APC] , Anti-human IgA, IgG or IgM polyclonal antibody, conjugated to alkaline phosphatase, stabilised with protein stabilisation solution; preservative: < 0.1 % methylisothiazolone, < 0.1 % bromnitrodioxane	13 ml
Washing solution concentrate (sufficient for 1000 ml) [WASH] , Sodium chloride solution with Tween 20 and 30 mM Tris/HCl, pH 7.4; preservative: < 0.1 % sodium azide	33.3 ml
Dilution buffer (ready-to-use) [DILB] , Protein containing phosphate buffer with Tween 20; preservative: < 0.1 % sodium azide; colouring: 0.01 g/l Bromphenol blue	2 x 50 ml
Stopping solution (ready-to-use) [STOP] , < 0.1 N sodium hydroxide, 40 mM EDTA	15 ml
Substrate (ready-to-use) [pNPP] , Para-nitrophenylphosphate in solvent free buffer; preservative: < 0.1 % sodium azide	13 ml
Quality control certificate with standard curve and evaluation table [INFO] , (quantification of antibodies in IU/ml or U/ml)	2 pages

18.1 ir 18.2 Į rinkinius įeina visi reikalingi tirpalai, kontrolės, kalibratoriai ir kiti priedai, reikalingi tyrimui atlikti

5 MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Common laboratory equipment
- For the IgM detection: SERION RF Absorbent (Order No. Z200 (20 ml))
- Photometer for microtiter plates with filter, wavelength 405 nm, recommended reference wavelength 620 nm - 690 nm (e.g. 650 nm)
- Microtiter plate washer
- Incubator 37 °C
- Moist chamber
- Distilled water
- Click-Clips (Order Nr. VT120.1)
- Optional: SERION ELISA *control*

6 STORAGE AND STABILITY

Reagent	Storage	Stability
Microtiter strips (coated with antigen)	unopened after opening at 2 – 8 °C in closed aluminum bag with desiccant	see expiry date 6 months
Control sera / Standard sera	unopened after opening at 2 – 8 °C	see expiry date 6 months
Conjugate	unopened after opening at 2 – 8 °C	see expiry date 6 months
Dilution buffer	unopened after opening at 2 – 8 °C	see expiry date 6 months
Washing solution	unopened / after opening at 2 – 8 °C working dilution at 2 – 8 °C working dilution at room temperature	see expiry date 2 weeks 1 week
Substrate	unopened after opening at 2 – 8 °C	see expiry date 6 months
Stopping solution	unopened after opening at 2 – 8 °C	see expiry date 6 months

7 TEST PROCEDURE SERION ELISA *classic*

7.1 General information

Optimum results can only be achieved if the instructions are strictly followed. Only use SERION ELISA *classic* reagents when using SERION ELISA *classic* immunoassays. The components must not be exchanged for reagents of other manufacturers. Standard and control sera of SERION ELISA *classic* immunoassays are defined exclusively for the test kit to be used and must not be used in other lots. Washing solution, substrate and stop solution can be used for all SERION ELISA *classic* immunoassays irrespective of the lot and the test.

Each SERION ELISA *classic* test contains a ready-to-use sample dilution buffer. In some cases the use of special dilution buffers is necessary to guarantee consistent quality and reliable results. The dilution buffers can be used irrespective of the lots.

There are three different conjugate concentrations for each immunoglobulin class (IgA, IgG, IgM), indicated on the label as + (low), ++ (medium) and +++ (high). Conjugates with the same concentration and of the same immunoglobulin class are interchangeable and can be used for other SERION ELISA *classic* immunoassays irrespective of the lot and the test. Dilution or alteration of the reagents may result in a loss of sensitivity. Use aseptic techniques when removing aliquots from the reagent tubes to avoid contamination.

Reproducibility of test results is dependent on thorough mixing of the reagents. Agitate the flasks containing control sera before use and also all samples after dilution (e.g. by using a vortex mixer).

Be sure to pipette carefully and comply with the given incubation times and temperatures. Significant time differences between pipetting the first and last well of the microtiter plate when dispensing samples and control sera, conjugate or substrate can result in different pre-incubation times, which may influence the precision and reproducibility of the results. Avoid exposure of reagents to strong light during storage and incubation.

Adequate washing avoids test unspecificities. Therefore, the washing procedure should be carried out carefully. All of the flat bottom wells should be filled with equal volumes of washing buffer. At the end of the procedure ensure that the wells are free of all washing buffer in order to avoid uncontrolled dilution effects. Avoid foaming!

Reagents must be tightly closed after use to avoid evaporation and contamination. Take care not to mix-up the caps of the bottles and/or vials.

The SERION ELISA *classic* immunoassay is only valid if the lot-specific validation criteria on the quality control certificate are fulfilled.

7.2 Sample Preparation and Storage

Lipaemic, hemolytic or icteric samples (serum or plasma) should only be tested with caution. Obviously contaminated samples should not be tested. Serum or plasma (EDTA, citrate, heparin) collected according to standard laboratory methods are suitable samples. Samples must not be thermally inactivated.

7.2.1 Dilution of Samples

Before running the test, patient samples (V_1) must be diluted in dilution buffer (V_2) as follows:

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA

$V_1 + V_2 = 1 + 100$	add	10 μ l	patient's sample
	each to	1000 μ l	dilution buffer

SERION ELISA *classic* Yersinia IgG

$V_1 + V_2 = 1 + 19$	add	10 μ l	patient's sample
	each to	190 μ l	dilution buffer

After dilution and before pipetting into the microtiter plate the samples must be mixed thoroughly to prepare a homogenous solution.

SERION ELISA *classic* Yersinia IgM

Interference with rheumatoid factors

Rheumatoid factors are autoantibodies mainly of the IgM class, which preferably bind to IgG immune complexes. The presence of non-specific IgM antibodies (rheumatoid factors) can lead to false-positive results in the IgM assay. Furthermore, the possibility exists, that weak-binding pathogen-specific IgM antibodies may be displaced by stronger-binding IgG antibodies leading to a false-negative IgM result. Therefore it is necessary to pretreat samples with rheumatoid factor-absorbent prior to IgM detection (SERION RF Absorbent, Order No.: Z200 (20 ml/100 tests)). Rf-absorption is performed by incubation of the patient's sample in Rf-dilution buffer for 15 minutes at room temperature or over night at 4 °C. The test procedure is described in a separate instruction manual.

Before running the test, rheumatoid factor-absorbent (V_1) must be diluted 1+4 in dilution buffer (V_2).

$V_1 + V_2 = V_3 (1 + 4)$	add	200 μ l	Rf-absorbent
	each to	800 μ l	dilution buffer

Patient's samples (V_4) must be diluted in this Rf-dilution buffer (V_3):

$V_4 + V_3 = 1 + 100$	add	10 μ l	patient's sample
	each to	1000 μ l	Rf-dilution buffer

7.2.2 Sample Storage

The patient's samples should not be stored for more than 7 days at 2 – 8 °C. Extended storage is possible at ≤ -20 °C. Avoid repeated freezing and thawing of samples. Diluted samples can be stored at 2 – 8 °C for one week.

7.3 Preparation of Kit Reagents

Bring all reagents to room temperature before testing.

7.3.1 Microtiter Test Strips

The microtiter test strips labeled with abbreviations for pathogen and immunoglobulin class are packed with a desiccant in an aluminum bag. To open the aluminum bag of the microtiter plate please cut off the top of the marked side only, in order to guarantee proper resealing. Take unrequired cavities out of the frame and put them back into the aluminum bag. Close bag carefully to ensure airtight conditions. Do not use the strips if the aluminum bag is damaged or if the bag with remaining strips and desiccant was not properly resealed.

7.3.2 Negative control Sera / Standard Sera (ready-to-use)

Negative control and standard sera are ready-to-use and must not be diluted any further. For each test run - independent of the number of microtiter test strips to be used – negative control and standard sera must be included. Standard sera should be set up in duplicate. Do not treat negative control and standard sera with Rf-absorbent.

7.3.3 Anti-human IgA, IgG or IgM AP-Conjugate (ready-to-use)

The required conjugate concentration (+, ++, +++) is indicated on the quality control certificate. Please refer also to the specification on the label. Avoid contamination.

7.3.4 Washing Solution (Concentrate)

Dilute washing buffer concentrate (V_1) 1:30 with aqua dest. to a final volume of V_2 . Bottles used for the working dilution should be cleaned regularly. Discard cloudy solutions.

Example:

Buffer concentrate (V_1)	Final volume (V_2)
33.3 ml	1000 ml
1.0 ml	30 ml

7.3.5 Dilution Buffer for Samples (ready-to-use)

Discard cloudy solutions.

7.3.6 Substrate (ready-to-use)

Substrate in unopened bottle may have a slightly yellow coloring, which does not reduce the quality of the product! Avoid contamination.

7.3.7 Stopping Solution (ready-to-use)

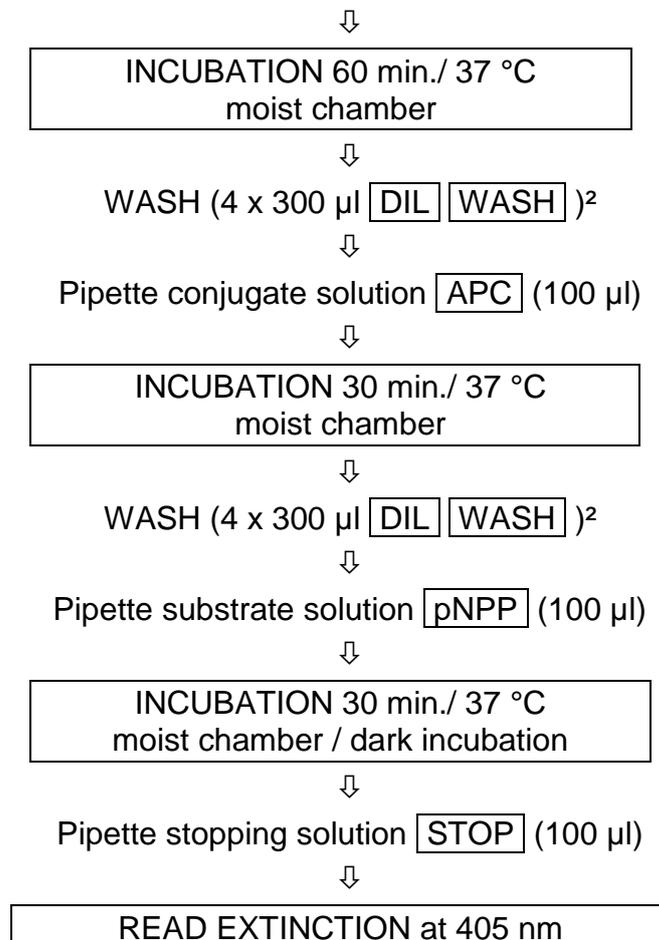
7.4 Overview - Test Procedure

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM quantitative

In case of IgM detection absorption of rheumatoid factor, see No. 7.2.1;
Incubation 15 minutes at room temperature or over night at 4°C

sample dilution¹
(patient's samples)
IgG: 1 + 19
IgA/IgM: 1 + 100

Pipette diluted samples and ready-to-use negative control /
standard sera into the microtest wells (100 µl)



¹Special dilution buffers for the following SERION ELISA *classic* tests:
Borrelia burgdorferi IgG, IgM, Dengue Virus superior IgM and Epstein-Barr Virus EA IgG.

²For manual use:
tap plate at the end of the wash procedure on paper towel.

7.5 Manual Test Procedure

1. Place the required number of **cavities in the frame** and prepare a protocol sheet.
2. Add each **100 µl of diluted sample or ready-to-use negative control/standard sera** into the appropriate wells of microtiter test strips. Spare one well for substrate blank, e.g.:

Well	Quantitative ELISA
A1	substrate blank
B1	negative control
C1	standard serum
D1	standard serum
E1	patient 1 ...
F1	patient 2 ...

3. **Sample incubation** for 60 minutes (+/- 5 min.) at 37 °C (+/- 1°C) in moist chamber
4. After incubation **wash** all wells with washing solution (by automated washer or manually):
 - aspirate or shake out the incubation solution
 - fill each well with 300 µl washing solution
 - aspirate or shake out the washing buffer
 - repeat the washing procedure 3 times (altogether 4 times!)
 - dry by tapping the microtiter plate on a paper towel
5. **Addition of conjugate**
Add 100 µl of the ready-to-use IgA/IgG/IgM conjugate to the appropriate wells (except substrate blank)
6. **Conjugate incubation** for 30 minutes (+/- 1 min.) at 37 °C (+/- 1 °C) in moist chamber.
7. After incubation **wash** all wells with washing solution (see above).
8. **Addition of substrate**
Add 100 µl of ready-to-use substrate solution to each well (including well for substrate blank!)
9. **Substrate incubation** for 30 minutes (+/- 1 min.) at 37 °C (+/- 1 °C) in moist chamber. Ensure dark incubation.
10. **Stopping of the reaction**
Add 100 µl stopping solution to each well, shake microtiter plate gently to mix.
11. **Read extinction**
Read optical density (OD) within 60 minutes at 405 nm against substrate blank, reference wave length between 620 nm and 690 nm (e.g. 650 nm).

7.6 Automated Test Procedure

SERION ELISA are validated for use with Immunomat (using the following consumables: VT124, VT111, VT112) and suited for processing on similar analyzers. For processing on the Immunomat the current software version including reagent check has to be used. The automated processing is performed analogous to manual use. Please note, that under special working-conditions internal laboratory adaptations of the substrate incubation times may be necessary.

7.7 SERION ELISA controls (external Positive Control / Accuracy Control)

For the periodic verification of the test method, in order to fulfil the requirements of laboratory internal quality management systems, we recommend using SERION ELISA *controls* to determine precision and accuracy of SERION ELISA *classic* test runs. SERION ELISA *controls* are separately available and the usage is described in specific instruction manuals. SERION ELISA *controls* are not available in all countries and the customer should consult the local distributor.

8 TEST EVALUATION

8.1 SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

The mathematical curve fitting for antibody quantification with SERION ELISA *classic* immunoassays is based on the 4-parameter logistic (4 PL) function.

$$Activity (U / ml) = e^{C - \frac{1}{B} \ln\left(\frac{D-A}{OD(Patient)*F-A}\right)}$$

The 4 parameters A, B, C, and D are representative for the exact shape of the standard curve:

Parameter A:	Lower asymptote (OD)
Parameter B:	Slope of the curve
Parameter C:	Inflection point
Parameter D:	Upper asymptote (OD)

Institut Virion\Serion GmbH establishes a lot-specific 4 PL standard curve for each SERION ELISA *classic* immunoassay in multiple test runs under optimal test conditions. The four parameters are indicated on the quality control certificate of each individual SERION ELISA *classic* test.

For the adaption of the test level to the given 4 PL standard curve the correction factor F is calculated by dividing the standard reference OD value indicated on the quality control certificate with the measured, and consequently test run-specific, standard OD value.

$$F = \frac{STD \text{ reference } OD \text{ value}}{\text{measured } STD \text{ OD value}}$$

By multiplying the OD values obtained from patient samples with the correction factor F, the level of each individual test run is adjusted to the given 4 PL standard curve. Thereby,

interassay deviations are compensated for and antibody activities can be directly evaluated from the 4 PL standard curve.

After subtraction of the substrate blank from all measured OD values and calculation of the mean OD value of the standard serum (STD), tested in duplicate, the evaluation of antibody activities from the optical measurement signals (OD) of patient samples can be performed with the 4PL function presented above.

8.2 Automated Evaluation / Software

Institut Virion\Serion GmbH recommends the use of the SERION *easyANALYZE* software for the automated evaluation of optical measurement signals.

8.3 Borderline Ranges

The borderline ranges of the SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM tests are specified on the quality control certificates and indicate the range of borderline test results. Values below this range indicate a negative test result; values above the borderline range are interpreted positive.

8.4 Limits of Quantification

The limits of quantification are specified on the quality control certificate of the SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM. The linearity of dilution within this range has been demonstrated in comprehensive evaluation studies. In case a patient sample shows a test result above the upper limit of quantification, the sample may be tested at a higher dilution. The resulting antibody activity must then be multiplied by the additional dilution factor.

8.5 Qualitative Evaluation with SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

For the SERION ELISA *classic* test evaluation a lot-specific quality control certificate with standard curve and an evaluation table is included in the test kit so that the obtained OD values may be assigned to the corresponding antibody activities. The substrate blank must be subtracted from all OD values prior to evaluation. Mean OD value of the standard serum (STD), tested in duplicate, has to be used.

Method 1:

In the first line of the table, several ranges of OD values for the standard serum are depicted covering the whole standard validity range. According to the measured mean OD value of the standard serum, the corresponding column can be chosen. This column contains the information of upper and lower cut-off OD values to allow evaluation of the patient sample. OD values below the lower cut-off are evaluated negative and values above the upper cut-off are evaluated positive. Implementation of the correction factor F is not necessary in the context of the evaluation table.

Method 2:

Qualitative Evaluation

To fix the cut-off ranges multiply the mean value of the measured standard OD with the numerical data of the quality control certificate (see special case formulas), e.g.:

OD = 0.502 x MW(STD) with upper cut-off

OD = 0.352 x MW(STD) with lower cut-off

If the measured mean absorbance value of the standard serum is 0.64 OD, the range of the cut-off is in between 0.225-0.321 OD.

Calculation example:

Standard serum mean OD = 0.64

Upper cut-off: OD = 0.502 x 0.64 = 0.321

Lower cut-off: OD = 0.352 x 0.64 = 0.225

8.6 Criteria of Validity

The substrate blank must be < 0.25 OD.

The negative control must be negative.

The mean OD value (after subtraction of the substrate blank!) of the standard serum must be within the validity range, which is given on the lot specific quality control certificate.

The variation of OD values of the standard serum must not be higher than 20 %.

If these criteria are not met, the test is not valid and must be repeated.

8.7 Interpretation of Results

A positive test result confirms the presence of specific antibodies. A negative result indicates that no clinically relevant antibodies against the pathogen are present in the patient's sample, but does not exclude the possibility of an acute infection. In case of a borderline result a reliable evaluation is not possible. A definitive diagnosis can only be achieved by testing paired serum samples, taken at one to two weeks intervals, in parallel.

IgG, IgA and IgM antibodies are detectable following infection with *Yersinia* and IgG antibodies may persist for years. The published literature states that the seroprevalence in the normal population in Europe is approx. 30 to 45 %. In an uncomplicated acute, primary infection levels of IgA and IgM antibodies fall within a few weeks or months to undetectable levels. Secondary immunological complications such as arthritis and *erythema nodosum* are characterized by a persistent elevated IgA titer while IgM falls as usual.

8.8 Reference Range of Healthy Individuals

Testing of random blood donor sera, collected in the region of southern Germany, with SERION ELISA *classic* Yersinia resulted in the following distribution:

SERION ELISA <i>classic</i>	Number	negative	borderline	positive
Yersinia IgA	105	91 (86.7 %)	7 (6.7 %)	7 (6.7 %)
Yersinia IgG	105	63 (60.0 %)	9 (8.6 %)	33 (31.4 %)
Yersinia IgM	105	103 (98.1 %)	2 (1.9 %)	-

9 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

9.1 Sensitivity and Specificity

The performance characteristics of the SERION ELISA *classic* Yersinia IgA and IgG tests were evaluated by the analysis of more than 150 serum samples from patients with suspected yersiniosis, healthy blood donors and samples from interlaboratory tests. The performance characteristics of the SERION ELISA *classic* IgM was evaluated using 22 serum samples from patients with suspected infection. An ELISA and an Immunoblot of a leading European manufacturer was used as reference test. The immunoassays of leading European manufacturers were used as reference tests. Sera classified as borderline were not included in the calculation of sensitivity and specificity.

	Sensitivity	Specificity
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgA	94.8 %	89.7 %
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgG	97.7 %	97.8 %
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgM	> 99 %	90.0 %

9.2 Reproducibility

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA

Sample	Mean Value (OD)	Intraassay CV (%)	Mean Value (OD)	Interassay CV (%)
Serum 1	0.400	3.1	0.491	4.1
Serum 2	0.866	2.7	0.990	3.0
Serum 3	2.289	3.0	2.697	2.9

SERION ELISA classic Yersinia IgG

Sample	Mean Value (OD)	Intraassay CV (%)	Mean Value (OD)	Interassay CV (%)
Serum 1	0.755	3.9	0.634	7.1
Serum 2	1.030	4.1	0.940	6.9
Serum 3	1.518	3.7	1.480	5.0

SERION ELISA classic Yersinia IgM

Sample	Mean Value (OD)	Intraassay CV (%)	Mean Value (OD)	Interassay CV (%)
Serum 1	0.272	2.9	0.296	2.8
Serum 2	0.626	1.2	0.605	2.8
Serum 3	1.045	2.6	1.028	2.6

9.3 Cross-reactivities

SERION ELISA classic Yersinia IgA

To determine detection of cross-reactive antibodies directed against different parameters sera were analyzed with SERION ELISA *classic* Yersinia IgA and a commercially available anti-Yersinia IgA ELISA. Positive sera (10 sera each) for *Helicobacter pylori* IgA and *Chlamydia pneumoniae* IgA have been tested as well as sera positive for rheumatoid factor (RF) and anti-nuclear antibodies (ANA). Within this internal evaluation potential cross-reactivities with six RF positive serum samples have been observed. The majority of reactivities have been confirmed by positive or borderline results in the reference assay. Other cross-reactivities cannot be ruled out in general.

SERION ELISA classic Yersinia IgG

To determine detection of cross-reactive antibodies directed against different parameters sera were analyzed with SERION ELISA *classic* Yersinia IgG and a commercially available anti-Yersinia IgG ELISA. Positive sera (10 sera each) for *Helicobacter pylori* IgG, *Francisella tularensis* IgG, *Borrelia burgdorferi* IgG and *Chlamydia pneumoniae* IgG have been tested as well as sera positive for rheumatoid factor (RF) and anti-nuclear antibodies (ANA). Within this internal evaluation potential cross-reactivities with one *Helicobacter pylori* IgG, one *Chlamydia pneumoniae* IgG, one ANA and seven RF positive serum samples have been observed. All reactivities have been confirmed by positive or borderline results in the reference assay..Other cross-reactivities cannot be ruled out in general.

SERION ELISA *classic* Yersinia IgM

To determine detection of cross-reactive antibodies directed against different parameters sera were analyzed with SERION ELISA *classic* Yersinia IgM and a commercially available anti-Yersinia IgM ELISA. Positive sera (10 sera each) for Helicobacter pylori IgM, Francisella tularensis IgM, Borrelia burgdorferi IgM and Chlamydia pneumoniae IgM have been tested as well as sera positive for rheumatoid factor (RF) and anti-nuclear antibodies (ANA). Within this internal evaluation potential cross-reactivities with one Francisella tularensis IgM and one Chlamydia pneumoniae IgM positive serum samples have been observed. Other cross-reactivities cannot be ruled out in general.

9.4 Interfering substances

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

To determine the influence of interfering substances, sera with different reactivities were analyzed with SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM. No interferences have been detected for sera with concentrations up to 2.00 g/L hemoglobin, 11.50 g/L lipemia/triglyceride or 0.201 g/L bilirubin (conjugated and unconjugated).

10 SAFETY MEASURES

10.1 Statements of Warning

The SERION ELISA *classic* is designed for use by qualified personnel who are familiar with good laboratory practice. All kit reagents and human specimens should be handled carefully, using established good laboratory practice.

- This kit contains human blood components. Although all control- and cut-off sera have been tested and found negative for anti-HIV-ab, HBs-Ag (*Hepatitis B-Virus-surface Antigen*) and anti-HCV-ab, they should be considered potentially infectious.
- Do not pipette by mouth.
- Do not smoke, eat or drink in areas in which specimens or kit reagents are handled.
- Wear disposable gloves, laboratory coat and safety glasses while handling kit reagents or specimens. Wash hands thoroughly afterwards.
- Patient's material and other potentially infectious material should be decontaminated after the test run.
- Reagents should be stored safely and be inaccessible to unauthorized access e.g. children.

10.2 Disposal

Please observe the relevant statutory requirements!

10.3 Limitation of the test

Please note that diagnosis should never be solely based on serological data. Rather, serological results have to be interpreted in the context of the clinical picture and other diagnostic findings.

11 LITERATUR / REFERENCES / RÉFÉRENCES / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA / REFERÊNCIAS / ΑΝΑΦΟΡΕΣ / ΟΔΚΑΖΥ / BIBLIOGRAFIA / ЛИТЕРАТУРА / REFERENCER / REFERENSER / REFERENCIE / REFERENCE / REFERANSER / REFERENCIÁK

- [1] Baert, F. (1994) Yersiniosis: The Clinical Spectrum. *Acta Clinica Belgica* 49, 76-85.
- [2] Bottone, E.J. (1997) *Yersinia enterocolitica*: The Charisma Continues. *Clin. Microbiol. Rev.* 10, 257-76.
- [3] Cremer, J. *et al.* (1993) Immunoblotting of *Yersinia* plasmid-encoded released proteins: A tool for serodiagnosis. *Electrophoresis* 14, 952-9.
- [4] Cremer, J. *et al.* (1995) Plasmidkodierte sekretorische Proteine von *Yersinia enterocolitica* als Antigene in einem IgG- und IgA-spezifischen immundiagnostischen Elisa. *Klin. Lab.* 41, 55-9.
- [5] Gransfors, K. (1980) Persistence of IgM, IgG, and IgA Antibodies to *Yersinia* in *Yersinia* Arthritis. *J. Infect. Dis.* 141, 424-9.
- [6] Gransfors, K. *et al.* (1988) IgM, IgG, and IgA Antibodies in *Yersinia* Infection. *J. Infect. Dis.* 157, 601-2.
- [7] Hammer, M. *et al.* (1995) Postenteritische reaktive Arthritiden und Spondarthritiden. *Deutsches Ärzteblatt* 92, 2738-49.
- [8] Lahesmaa-Rantala, R. *et al.* (1989) Avidity of antibodies against released proteins of *Yersinia* spp: comparison of patients with or without reactive arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 48, 1003-6.
- [9] Mäki-Ikola, O. *et al.* (1994) *Yersinia*-specific antibodies in serum and synovial fluid in patients with *Yersinia* triggered reactive arthritis: *Ann. Rheum. Dis.* 53; 535-9.
- [10] Mäki-Ikola, O. (1997) High frequency of *Yersinia* antibodies in healthy populations in Finland and Germany. *Rheumatol. Int.* 16, 227-9.
- [11] Ruckdeschel, K., Deuretzbacher, A., and Haase, R. (2008) Crosstalk of signalling processes of innate immunity with *Yersinia* Yop effector functions. *Immunobiol.* 213, 261-9.
- [12] Skurnik, M. (2007) My Life with *Yersinia*. *Adv. Exp. Med. Biol.* 603, 44-73.
- [13] Tomaso, H., Mooseder, G., Al Dahouk, S., Bartling, C., Scholz, H.C., Strauss, R. Treu, T.M. and Neubauer, H. (2006) Seroprevalence of Anti-*Yersinia* Antibodies in Healthy Austrians. *Eur. J. Epidemiol.* 21, 77-81.

SERION ELISA classic

Symbole auf den Etiketten/ symbols on labels/ symboles et étiquettes/ simboli sulle etichette/ символы на этикетках/símbolos sobre las etiquetas/ σύμβολα στις ετικέτες/ símbolos nos rótulos / Symboly na štítcích / symboler på etiketter/ symboler på etiketterna/ Symbole na etykietach/ symboly na označení/ Simboli na oznakah/ symbol på etiketter



Hersteller/ Manufacturer/ Fabricant/ Produttore/Производитель/ Fabricante/ Κατασκευαστής/ Fabricante/ Výrobce/ Fremstiller/ Tillverkare/ Producent/ Výrobca/ Izdelovalec/ Producent



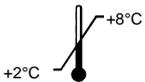
Ausreichend für 96 Tests/ sufficient for 96 tests/ suffisant pour 96 tests/ sufficiente per 96 test/ достаточно для 96 тестов / suficiente para 96 pruebas/ επαρκεί για 96 δοκιμασίες/ suficiente para 96 ensaios/ stačí na 96 testů/ nok til 96 test/ tillräckligt för 96 tester/ Wystarcza na 96 testów/ postačuje na 96 testov/ Zadostuje za 96 testov/ Tilstrekkelig til 96 tester



Charge/ lot/ lot / lotto/ lote/ παρτίδα/ lote/ šarže/ lot/ lot/ seria/ šarža/ serija/ lot /lot



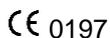
Referenz oder Bestellnummer/ reference or order number/ numéro de référence ou de commande/ numero di riferimento o ordinazione/ ссылка или номер для заказа / referencia o número de pedido/ Αριθμός αναφοράς ή παραγγελίας/ referênciã ou número para encomenda/ reference nebo číslo objednávky/ reference eller bestillingsnummer/ referens eller beställningsnummer/ Numer referencyjny lub numer zamówienia/ referenčné číslo alebo číslo objednávky/ referenčna ali kataloška številka/ Referanse eller ordrenummer



Lagern zwischen 2 und 8 Grad Celsius/ store between 2 and 8 degree celsius/ entre 2 et 8 degré celsius/ conservare a temperatura compresa tra 2 e 8 gradi centigradi/ хранить при температуре от 2 до 8 градусов цельсия / conservar entre 2 y 8 grados celsius/ Φύλαξη μεταξύ 2 και 8 βαθμούς Κελσίου/ Armazenar entre 2º e 8º Celsius/ uchovávejte při teplotě 2 až 8 °C/ opbevares mellem 2 og 8 grader celsius/ förvara vid 2 till 8 grader Celsius/ Przechowywać w temp. pomiędzy 2 a 8 stopni Celsjusza/ skladovať pri teplote 2 až 8 stupňov Celzia/ Shranjujte pri temperaturi od 2 do 8 C/ Oppbevares mellom 2 og 8 grader Celsius



CE-Markierung bei Erfüllung der IVD Richtlinie 98/79 EG/ CE marking according to IVD guideline 98/79 EC/ Étiquetage CE selon les directives DIV/ marcatura CE in conformità alla direttiva IVD 98/79 EC/ маркировка CE согласно директивам IVD 98/79 /marca CE según la directiva IVD 98/79 CE/ Σήμανση CE σύμφωνα με την οδηγία IVD 98/79 EE/ Marcação CE de acordo com a Directiva 98/79/ značení CE podle směrnice IVD 98/79/ES/ CE-mærkning iht. IVD-retningslinje 98/79/EF/ CE-märkning enligt riktlinjerna för IVD i direktiv 98/79/EC/ Oznakowanie CE zgodne z wytycznymi dot. diagnostyki in vitro 98/79 EC/ oznaczenie CE podľa smernice IVD 98/79/ES/ oznaka CE, skladna s smernico IVD 98/79/ES/ CE-merking i henhold til IVD-retningslinjer 98/79/EØF



CE-Markierung bei Erfüllung der IVD Richtlinie 98/79 EG gemäß Anhang II, Liste B/ CE marking according to IVD guideline 98/79 EC according to annex II, list B/ Étiquetage CE selon les directives DIV 98/79 CE selon l'annexe II, liste B/ marcatura CE in conformità alla direttiva IVD 98/79 EC secondo l'allegato II, elenco B/ маркировка CE согласно директивам IVD 98/79, приложение II, список B / marca CE según la directiva IVD 98/79 CE de acuerdo con el anexo II, lista B/ Σήμανση CE σύμφωνα με την οδηγία IVD 98/79 EE, σύμφωνα με το παράρτημα II, κατάλογο B/ Marcação CE de acordo com a Directiva 98/79/ CE relativo aos dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*, segundo a lista B do anexo II/ značení CE podle směrnice IVD 98/79/ ES podle příloh II, seznamu B/ CE-mærkning iht. IVD-retningslinje 98/79 /EF iflg. annek II, liste B/ CE-märkning enligt riktlinjerna för IVD i direktiv 98/79/EC, bilaga II, lista B/ Oznakowanie CE zgodne z wytycznymi dot. diagnostyki in vitro 98/79 EC, zgodnie z aneksem II, lista B/ oznaczenie CE podľa smernice IVD 98/79 ES v znení dodatku II, zoznam B/ oznaka CE, skladna s smernico IVD 98/79/ES in seznamom B v Dodatku II/ CE-merking i henhold til IVD-retningslinjer 98/79/EØF, tillegg II, liste B



Verfallsdatum/ expiry date/ date d'expiration/ data di scadenza/ срок годности до /fecha de caducidad/ ημερομηνία λήξης/ data de validade/ datum expirace/ udløbsdato/ förfallodatum/ data upływu ważności/ dátum expirácie/ datum izteka roka uporabnosti/ utløpsdatp

- MTP** Mikrotiterplatte (brechbare Streifen)/ microtiter plate (breakable strips)/ plaque de microtitration (bandelettes détachables)/ piastra per microtitolazione (strisce separabili)/ микротитровальная панель (отрывные стрипы) /placa de microtitulación (tiras rompibles)/ Πλάκα μικροτιτλοποίησης (αποσπώμενες ταινίες)/ placa de microtitulação (tiras quebráveis)/ mikrotitrační deska (rozlomitelné proužky)/ mikrotiterplade (afbrækkelige strimler)/ mikrotiterplatta (brytbara strips)/ Płytką mikrotitracyjną (paski do odrywania)/ mikrotitračná platnička (rozlomitelné prúžky)/ vsebnik za mikrotitriranje (z razdelki, ki jih je mogoče odlomiti)/ Mikrotiterplate (avbrytbare strips)
- AG** Antigen/ antigen/ Antigène/ antigene/ антиген /antígeno/ αντιγόνο/ antigénio/ antigen/ antigen/ antigen/ Antygen/ antigén/ antigen/ Antigen
- AK** Antikörper/ antibodies/ Anticorps/ anticorpi/ антитела / anticuerpos/ αντίσωμα/ anticorpos/ protilátky/ antistoffer/ antikroppar/ Przeciwciała/ protilátky/ protitelesa/ Antistoffer
- CAG** Kontrollantigen/ control antigen/ antigène de contrôle/ antigene di controllo/ контрольный антиген /antígeno de control/ αντιγόνο ελέγχου/ antígeno de controle/ kontrolní antigen/ kontrollantigen/ kontrollantigen/ antygen kontrolny/ kontrolný antigén/ kontrolni antigen/ kontrollantigen
- STD** Standardserum/ standard serum/ Sérum standard/ siero standard/ стандартная сыворотка /suero patrón/ πρότυπος ορός/ soro padrão/ standardní sérum/ standardserum/ standardserum/ Surowica standardowa/ štandardné sérum/ standardni serum/ Standardserum
- POS** Positivkontrolle/ positive control/ Contrôle positif/ controllo positivo/ положительные контроли /control positivo/ θετικός έλεγχος/ controlo positivo/ pozitivní kontrola/ positiv kontrol/ positiv kontroll/ Kontrola pozytywna/ pozitivna kontrola/ pozitivna kontrola/ Positiv kontroll
- C/O** Grenzwertiges Serum/ cut-off serum/ Sérum seuil/ siero cut-off/ сомнительные сыворотки (пограничные)/suero de corte/ οριακός ορός (cut-off)/ soro *cut-off*/ cut-off sérum/ cutoff-serum/ cutoff-serum/ Surowica „cut-off“/ sérum na určenie hraničnej hodnoty/ mejni serum/ Stoppserum
- NEG** Negativkontrolle/ negative control/ Contrôle négatif/ controllo negativo/ отрицательные контроли /control negativo/ αρνητικός έλεγχος/ controlo negativo/ negativní kontrola/ negativ kontrol/ negativ kontroll/ Kontrola negatywna/ negativna kontrola/ negativna kontrola/ Negativ kontroll
- APC** Alkalisches Phosphatase Konjugat antihuman/ alkaline phosphatase conjugate anti-human/ conjugué phosphatase alcaline anti-humain/ coniugato con fosfatasi alcalina anti-umano/ античеловеческий щелочной конъюгат фосфатазы / conjugado anti humano de fosfatasa alcalina/ Σύζευξη αλκαλικής φωσφατάσης/ conjugado anti-humano com fosfatase alcalina/ conjugát alkalické fosfatázy anti-humánní/ alkalisk phosphatase konjugat antihumant/ antihumant alkaliskt fosfatas-konjugat/ Anty-ludzki koniugat fosfatazy alkalicznej/ konjugát antihumánnej alkalickéj fosfatázy/ konjugat alkalne fosfataze, antihumani/ Alkalisk fosfatase-konjugat, anti-humant
- +** niedrig-konzentriertes Konjugat/ conjugate with low concentration/ conjugué à faible concentration/ coniugato a concentrazione bassa/ конъюгат низкой концентрации /conjugado con concentración baja/ Σύζευξη χαμηλής συγκέντρωσης/ conjugado de baixa concentração/ konjugát s nízkou koncentrací/ konjugat med lav koncentration/ konjugat med låg koncentration/ koniugat o niskim stężeniu/ konjugát so srednou koncentráciou/ konjugat z majhno koncentracijo/ Konjugat med lav konsentrasjon
- ++** mittel-konzentriertes Konjugat/ conjugate with medium concentration/ conjugué à concentration moyenne/ coniugato a concentrazione media/ конъюгат средней концентрации /conjugado con concentración media/ Σύζευξη μέτριας συγκέντρωσης/ conjugado de concentração intermédia/ konjugát se střední koncentrací/ konjugat med medium koncentration/ konjugat med medelhög koncentration/ koniugat o średnim stężeniu/ konjugát so srednou koncentráciou/ konjugat s srednjo koncent/ Konjugat med middels konsentrasjon
- +++** hoch-konzentriertes Konjugat/ conjugate with high concentration/ conjugué à concentration élevée/ coniugato a concentrazione alta/ высококонцентрированный конъюгат/ conjugado con concentración alta/ σύζευξη υψηλής συγκέντρωσης/ conjugado de elevada concentração/ konjugát s vysokou koncentrací/ konjugat med høj koncentration/ konjugat med hög koncentration/ koniugat o wysokim stężeniu/ konjugát s vysokou koncentráciou/ konjugat z veliko koncentracijo/ Konjugat med høy konsentrasjon

- RF** Rheumafaktor-Absorbens (Rf-Absorbens)/ rheumatoid factor absorbent (rf-absorbent)/ absorbant de facteur rhumatoïde (rf-absorbant)/ adsorbente del fattore reumatoide (adsorbente Rf)/ абсорбент ревматоидного фактора (Rf-абсорбент) /adsorbente de factor reumatoide (material absorbente de Rf)/ Απορροφητής ρευματοειδούς παράγοντα (απορροφητής Rf)/ absorbente de factor reumatóide (absorbente de Fr)/ absorbent revmatoidního faktoru (rf-absorbent)/ reumafaktor-absorptionsmiddel (rf-absorptionsmiddel)/ reumafaktor-absorptionsmedel (rf-absorptionsmedel)/ Absorbent czynnika reumatoidalnego (absorbent RF)/ absorbent reumatoidného faktora (absorbent rf)/ absorbent revmatoidnega faktorja (absorbent RF)/ Revmatoid faktor-absorbent (rf-absorbent)
- DILB** Verdünnungspuffer für Serum/ dilution buffer for sera/ sérum pour le tampon de dilution/ tampone di diluizione per sieri / разбавляющий буфер для сыворотки / solución amortiguadora para los sueros/ ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης για ορούς/ tampão de diluição para soro/ ředící pufr pro séra/ fortyndingsbuffer til sera/ spädningsbuffert för serum/ bufor rozcieńczający do surowic / pufor na riedenie sér/ pufer za redčenje seruma/ Fortynningsbuffer til serum
- DILBS1**
- DILBS2**
- DILBS4**
- WASH** Waschlösungskonzentrat/ washing solution concentrate/ concentré de solution de lavage / soluzione di lavaggio concentrata / промывочный концентрат /concentrado de solución de lavado/ συμπύκνωμα έκπλυσης/ concentrado de solução de lavagem/ koncentrát promývacieho roztoku/ vaskeopløsningskoncentrat/ tvättlösningskoncentrat/ Stężony roztwór do płukania/ koncentrát premývacieho roztoku/ koncentrat za raztopino za izpiranje/ Vaskeløsningskonsentrat
- pNPP** pNPP Substrat/ pNPP substrate/ substrat Pnpp/ substrato pNPP/ pNPP субстрат / sustrato pNPP/ Υπόστρωμα pNPP/ substrato pNPP/ pNPP substrát/ pNPP-substrat/ pNPP-substrat/ Substrat pNPP/ substrát pNPP/ substrat pNPP/ pNPP-substrat
- STOP** Stopplösung/ stopping solution/ solution d'arrêt/ soluzione di arresto/стоп-раствор/ solución de parada/ διάλυμα διακοπής/ solução de paragem/ zastavovací roztok/ stopopløsning/ stoppløsning/ roztwór zatrzymujący reakcję/ ukončovací roztok/ raztopina za ustavitev reakcije/ stoppeløsning
- INFO** Gebrauchsanweisung, Zertifikat (Standardkurve und Auswertetabelle), CD/ instructions, certificate (standard curve and evaluation table), CD/ instructions, certificat (courbe de référence et tableau d'évaluation), CD/ istruzioni per l'uso, certificato (curva standard e tabella interpretativa), CD/ Инструкция по применению, сертификат (стандартная кривая и таблица для оценки), компактный диск /instrucciones, certificado (curva patrón y tabla de evaluación), CD/ Οδηγίες χρήσης, Πιστοποιητικό (πρότυπη καμπύλη και πίνακας υπολογισμού), CD/ instruções, certificado (curva padrão e tabela de avaliação), CD/ (standardní křivka a vyhodnocovací tabulka), CD/ brugsanvisning, certifikat (standardkurve og evalueringstabel), CD/ instruktioner, certifikat (standardkurva och utvärderingstabel), CD/ Instrukcje, certyfikat (krzywa standardowa i tabela do określania wyników/ CD/ pokyny, certifikát (šstandardná krivka a hodnotiacia tabuľka), disk CD/ navodila, certifikat (standardna krivulja in ocenjevalna tabela), CD/ Instruksjoner, sertifikat (standardkurve og evalueringstabel), CD
- RTU** gebrauchsfertig/ ready-to-use/ prêt à l'emploi/ pronto per l'uso/ готовый к использованию /listo para usar/ έτοιμο προς χρήση/ pronto a utilizar/ připravený k použití/ klar til brug/ bruksfærdig/ gotowy do użycia/ pripravené na použitie/ pripravljen za uporabo/ klar til bruk
- CONC** Konzentrat/ concentrate/ concentré/ concentrato/ концентрат / concentrado/ Συμπύκνωμα/ concentrado/ koncentrát/ koncentrat/ koncentrat/ Konzentrat/ koncentrát/ koncentrat/ Konsentrat
- DIL** verdünnen oder lösen in/ dilute or dissolve in/ diluez ou dissoudre dans/ diluire o sciogliere in/ разбавить или растворить в /diluir o disolver en/ αραιώση ή διάλυση σε/ diluir ou dissolver em/ naředitě nebo rozpustitě v/ fortynd eller opløs i/ späd eller lös i/ Rozcieńczyć lub rozpuścić w/ rozrieditě alebo rozpustiť v/ razredčite ali raztopite v/ Fortynnes eller løses opp i
- AQUA** destilliertes Wasser/ aqua detillata/ eau distillée/ acqua distillata/ дистиллированная вода /agua destilada/ αποσταγμένο νερό/ água destilada/ destilovaná voda/ destilleret vand/ destillerat vatten/ woda destylowana/ destilovaná voda/ destilirana voda/ Destillert vann



In-vitro Diagnostik Anwendung/ in-vitro diagnostic use/ utilisation en diagnostic in-vitro/ uso diagnostico in vitro/ использование в диагностике ин-витро /uso diagnóstico in-vitro/ Διάγνωση, χρήση in-vitro/ para diagnóstico *in vitro*/ diagnostické použití in-vitro/ til in-vitro diagnostik/ *in vitro*-diagnostisk användning/ do diagnostyki in vitro/ diagnostické použitie in-vitro/ uporaba pri diagnostiki *in vitro*/ In vitro-diagnostisk bruk



Gebrauchsanweisung beachten/ consult instructions for use/ se référer à la notice d'instruction/ consultare le istruzioni per l'uso/ ознакомьтесь с инструкцией по использованию/ consúltense las instrucciones de uso/ συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης/ consultar as instruções de utilização/ čtěte návod k použití/ se brugsanvisningen/ se bruksanvisningen/ zapoznaj się z instrukcją stosowania/ dodržuj návod na použitie/ glejte navodila za uporabo/ se bruksanvisningen/ figyelembe kell venni a használati utasítást

SERION ELISA classic

102	Masern/Measles Virus	126	Parainfluenza Virus
103	Mumps Virus	127	Mycoplasma pneumoniae
104	Varicella Zoster Virus	128	Adenovirus
105	Herpes Simplex Virus 1/2	129	Röteln/Rubella Virus
1051	Herpes Simplex Virus 1	130	Diphtheria
1052	Herpes Simplex Virus 2	1311	Coxiella burnetii Phase 1
106	Legionella pneumophila 1-7	1312	Coxiella burnetii Phase 2
107	Echinococcus	132	Aspergillus fumigatus
108	Tetanus	133	Enterovirus
109	Cytomegalovirus	134	Coxsackievirus
110	Toxoplasma gondii	135	Echovirus
112	FSME/TBE Virus	1361	Epstein-Barr Virus VCA
113	Respiratory Syncytial Virus	1362	Epstein-Barr Virus EBNA 1
114	Dengue Virus	1363	Epstein-Barr Virus EA
1141	Dengue Virus superior	137	Chlamydia
116	Brucella	1371	Chlamydia pneumoniae
117	Candida albicans	1372	Chlamydia trachomatis
118	Helicobacter pylori	138	Yersinia
120	Bordetella pertussis	139	Campylobacter jejuni
1201	Bordetella pertussis Toxin	141	West Nile Virus
121	Borrelia burgdorferi	142	Francisella tularensis
122	Parvovirus B19	147	Leishmania
1231	Influenza A Virus	148	Chikungunya Virus
1232	Influenza B Virus	149	Zika Virus
125	Leptospira		



Manufacturer

virion\serion

Institut Virion\Serion GmbH

Friedrich-Bergius-Ring 19
97076 Würzburg, Germany

Tel. +49 (0) 931 3045 0 Fax +49 (0) 931 3045 100

Mail info@virion-serion.de

Web www.virion-serion.de

Atnaujinimai

Esamos versijos nr.: V 138.15

Ankstesnė versija: V 138.14

Atnaujinimas skyriuje: 8.2;9.1

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

TURINYS

1 NUMATYTAS NAUDOJIMAS

2 DIAGNOSTINĖ SVARBA

3 SERION ELISA *classic* TYRIMO PRINCIPAS

4 RINKINIO KOMPONENTAI

5 REIKALINGOS, TAČIAU NETIEKIAMOS MEDŽIAGOS

6 SANDĖLIAVIMAS IR STABILUMAS

7 SERION ELISA *classic* TYRIMO EIGA

7.1 Pablogėjimo įrodymai

7.2 Mėginių paruošimas ir laikymas

7.3 Rinkinio reagentų paruošimas

7.4 Bendra informacija – tyrimo procedūra

7.5 Rankinė tyrimo procedūra

7.6 Automatinė tyrimo procedūra

7.7 Teigiama kontrolė/tikslumo kontrolė

8 TYRIMO VERTINIMAS

8.1 SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

8.2 Ribiniai intervalai

8.3 Kiekio nustatymo apribojimai

8.4 Automatinis įvertinimas/programinė įranga

8.5 Patikimumo kriterijai

8.6 Rezultatų interpretavimas

8.7 Sveikų asmenų palyginamieji intervalai

9 NAŠUMO CHARAKTERISTIKOS

9.1 Jautrumas ir specifiškumas

9.2 Atkuriamumas

10 SAUGUMO PRIEMONĖS

10.1 Perspėjimai

10.2 Utilizavimas

11 LITERATŪRA

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

Fermentų imuninis tyrimas, skirtas žmogaus antikūnų nustatymui in vitro diagnostiniam naudojimui

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA
SERION ELISA *classic* Yersinia IgG
SERION ELISA *classic* Yersinia IgM

Užsakymo nr.: ESR138A

Užsakymo nr.: ESR138G

Užsakymo nr.: ESR138M

1 NUMATYTAS NAUDOJIMAS

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA, IgG ir IgM testai yra kiekybiniai ir kokybiniai imuniniai tyrimai žmogaus antikūnų prieš plazmide užkoduotus Yersinia virulencijos žymenis aptikimui serume ar plazmoje. SERION ELISA *classic* Yersinia yra rekomenduojama ūmios ir nesenos virškinimo trakto ligos ir reaktyviojo artrito diferenciacijos atveju.

2 DIAGNOSTINĖ SVARBA

Y. enterocolitica ir *Y. pseudotuberculosis* yra svarbūs žmogaus patogenai, atsakingi už įvairius žarnyno sindromus, pvz. enteritą, viduriavimą, pseudoappendicitą ir pacientams, turintiems imuninės sistemos sutrikimus, hemopatiją ir sepsį. Po infekcijos gali atsirasti komplikacijų, tokių kaip reaktyvusis artritas, mazginė eritema ir kitos reumatinės ligos. Šios komplikacijos dažnai išryškėja asmenims, turintiems HLA-B27 geną.

Yersinia yra paplitusi visur, tačiau daugiausia paplitusi vidutinio klimato ir subtropikų srityse. Ji randama šiltakraujų gyvūnų (laukinių ir prijaukintų) žarnyne ir išmatose. Pirmiausia perduodama užterštais maisto produktais.

Bakterijos virulentiškumas priklauso nuo plazmide užkoduotų baltymų, kurių molekulinė masė yra 23 - 51 kD. Šie virulentiškumu susiję baltymai, vadinami YOP (*Yersinia Outer Proteins*), buvo charakterizuoti ir yra priimami kaip svarbūs diagnostiniai žymenys. Yersinia išoriniai baltymai yra specifinės genties, todėl nustatomi antikūnai prieš visus svarbius serotipus.

Įvairių antikūnų klasių dinamika yra svarbi reumatoidinės ligos, tokios kaip reumatoidinis artritas, diferencinei diagnozei.

Nors dėl *Yersinia* infekcijos susidaro IgG antikūnai, kurių kiekis gali išlikti padidėjęs kelerius metus, YOP specifiniai IgA ir IgM atsakai yra trumpesni ir įprastos infekcijos atveju išnyksta per kelis mėnesius. Priešingai, po infekcijos atsiradusių komplikacijų IgA titras išlieka padidėjęs (galbūt metų metus), dažnai labai aukštas, o IgM titras nukrenta per kelis mėnesius.

Tyrimo sistemos yra naudojamos nustatyti antikūnus prieš visus žmonėms patogeninius Yersinia serologinius virusus.

ELISA (su fermentais susijęs imunisorbentinis tyrimas) yra imuninis tyrimas, ypač tinkamas antikūnų nustatymui infekcinės serologijos srityje. Reakcija yra paremta specifine antikūnų sąveika su atitinkamu antigenu. SERION ELISA *classic* mikrotitrinės plokštelės tyrimo juostelės yra padengtos specifiniais dominančio patogeno antigenais. Jeigu paciento serumo mėginyje yra antikūnų, jie prisiriša prie fiksuoto antigeno. Antrinis antikūnas, kuris sujungtas su fermentu – šarmine fosfataze, aptinka ir prisiriša prie imuninio komplekso. Tada bespalvis substratas *p*-nitrofenilfosfatas paverčiamas spalvotu produktu – *p*-nitrofenoliu. Šio reakcijos produkto signalo intensyvumas yra proporcingas analitės koncentracijai mėginyje ir yra matuojamas fotometriniu būdu.

4 RINKINIO KOMPONENTAI

Testo komponentai	Vnt./Tūris
Nulaužiamos mikrotitrinės tyrimo juostelės, kiekviena su aštuoniais antigenu padengtais atskirais šulinėliais (iš viso 96) MTP, 1 rėmelis. Dangos medžiaga yra inaktyvuota.	12 vnt.
Standartinis serumas (paruoštas naudojimui) STD, Žmogaus serumas fosfato buferiniame tirpale, kurio sudėtyje yra baltymų; Neigiamas anti-ŽIV Ab, HBs-Ag (hepatito B viruso paviršiaus antigenui) ir anti-HCV Ab; Konservantas: < 0,1 % natrio azidas; Dažymas: Amaranth O	2x2 ml
Neigiamos kontrolės serumas (paruoštas naudojimui) NEG, Žmogaus serumas fosfato buferiniame tirpale, kurio sudėtyje yra baltymų; Neigiamas anti-ŽIV Ab, HBs-Ag (hepatito B viruso paviršiaus antigenui) ir anti-HCV Ab; Konservantas: < 0,1 % natrio azidas; Dažymas: Lissamin Green V	2 ml
Anti žmogaus IgA, IgG arba IgM konjugatas (paruoštas naudojimui) APC, Anti žmogaus IgA, IgG ar IgM polikloninis antikūnas, Prijungtas prie šarminės fosfatazės, stabilizuotas su baltymų stabilizavimo tirpalu; Konservantas: < 0,1 % metilizotiazolonas, <0,1 % bromonitrodioksanas	13 ml
Plovimo tirpalo koncentratas (pakanka paruošti 1000 ml) WASH, Natrio chlorido tirpalas su Tween 20 ir 30 mM Tris/HCl, pH 7,4; Konservantas: < 0,1 % natrio azidas	33,3 ml
Skiedimo buferinis tirpalas (paruoštas naudojimui) DILB Fosfato buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra baltymo, su Tween 20; Konservantas: < 0,1 % natrio azidas; Dažymas: 0,01 g/l bromfenolio mėlis	2x50 ml
Stabdymo tirpalas (paruoštas naudojimui) STOP, <0,1 N natrio hidroksidas, 40 mM EDTA	15 ml
Substratas (paruoštas naudojimui) pNPP, Para-nitrofenilfosfatas buferiniame tirpale be tirpiklio; Konservantas: < 0,1 % natrio azidas	13 ml
Kokybės kontrolės sertifikatas su standartine kreive ir vertinimo lentelė INFO, (Antikūnų kiekybinis įvertinimas IU/ml arba U/ml)	2 puslapiai

Lietuvių kalba 3 5 REIKALINGOS, TAČIAU NETIEKIAMOS MEDŽIAGOS

- Įprastinė laboratorinė įranga;

- IgM aptikimui: SERION Rf absorbentas (užsakymo nr. Z200 (20 ml));
- Fotometras mikrotitrinėms plokštelėms su filtru, bangos ilgis 405 nm, rekomenduojamas palyginamasis bangos ilgis 620-690 nm intervale (pvz., 650 nm);
- Mikrotitrinių plokštelių plovyklė;
- Inkubatorius, 37 °C;
- Drėkinimo kamera;
- Distiliuotas vanduo;
- Užspaudžiami spaustukai (užsakymo nr. VT120);
- Pasirinktinai: SERION ELISA *control*.

6 SANDĖLIAVIMAS IR STABILUMAS

Reagentas	Laikymo sąlygos	Stabilumas
Mikrotitrinės plokštelės (padengtos antigenų)	Neatidarius Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C, uždaramė aliuminio maišelyje su desikantu.	Žr. galiojimo datą. Trumpiausias galiojimo laikas: keturios savaitės
Kontroliniai serumai/standartiniai serumai	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C.	Žr. galiojimo datą.
Konjugatas	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C.	Žr. galiojimo datą.
Skiedimo buferinis tirpalas	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C.	Žr. galiojimo datą.
Plovimo tirpalas	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C. Darbinis skiedinys laikomas, kai temperatūra 2-8 °C. Darbinis skiedinys laikomas kambario temperatūroje.	Žr. galiojimo datą. 2 savaitės 1 savaitė
Substratas	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C.	Žr. galiojimo datą.
Stabdymo tirpalas	Neatidarius/Po atidarymo laikykite, kai temperatūra 2-8 °C.	Žr. galiojimo datą.

Optimalūs rezultatai gali būti gauti tik tada, kai griežtai laikomasi instrukcijų. Naudokite SERION ELISA *classic* reagentus tik tada, kai atliekate SERION ELISA *classic* imuninius tyrimus. Komponentų negalima keisti į kitų gamintojų reagentus. SERION ELISA *classic* imuninių tyrimų standartiniai ir kontroliniai serumai paruošiami būtent tam tyrimo rinkiniui, kuris bus naudojamas, ir jų negalima naudoti su kitomis partijomis. Plovimo tirpalą, substratą ir stabdymo tirpalą galima naudoti visiems SERION ELISA *classic* imuniniams tyrimams, nepriklausomai nuo partijos ir testo.

Kiekvienas SERION ELISA *classic* testas turi paruoštą naudoti mėginio skiedimo buferinį tirpalą. Kai kuriais atvejais reikia naudoti specialius skiedimo buferinius tirpalus tam, kad būtų užtikrinti tinkamos kokybės ir patikimi rezultatai. Skiedimo buferiniai tirpalai gali būti naudojami nepriklausomai nuo partijų.

Yra trys skirtingos konjugato koncentracijos, skirtos kiekvienai imunoglobulinų klasei (IgA, IgG, IgM), kurios ant etikečių nurodomos kaip + (žema), ++ (vidutinė) ir +++ (aukšta). Tos pačios koncentracijos ir imunoglobulinų klasės konjugatai gali būti keičiami tarpusavyje ir naudojami kitiems SERION ELISA *classic* imuniniams tyrimams, nepriklausomai nuo partijos ir testo. Reagentų skiedimas ar pakeitimas gali sumažinti tyrimo jautrumą. Tam, kad išvengtumėte užteršimo, imdami tirpalus iš reagento mėgintuvėlių taikykite sterilius metodus.

Testo rezultatų atkuriamumas priklauso nuo to, ar gerai išmaišysite reagentus. Talpas su kontroliniais serumais ir visus mėginius po skiedimo prieš naudojimą pamaišykite (pvz., naudodami sukurinę maišyklę).

Būtinai kruopščiai sulašinkite medžiagas ir laikykitės nustatyto inkubavimo laiko bei temperatūros. Reikšmingi laiko skirtumai tarp įlašinimo į pirmą ir paskutinį mikrotitrinės plokštelės šulinėlį skirstant mėginius ir kontrolinius serumus, konjugatą ar substratą gali lemti skirtingą laiką prieš inkubavimą, o šis gali paveikti rezultatų tikslumą ir atkuriamumą. Sandėliavimo ir inkubavimo metu venkite stiprios saulės šviesos poveikio reagentams.

Tinkamas plovimas leis išvengti testo nespecifiškumą. Todėl plovimo procedūrą reikia atlikti labai atidžiai. Visi plokščiadugniai šulinėliai turi būti pripildyti vienodais plovimo buferinio tirpalo tūriais. Tam, kad išvengtumėte nekontroliuojamų skiedimo efektų, procedūros pabaigoje užtikrinkite, kad šulinėliuose visiškai nebeliktų plovimo buferinio tirpalo. Venkite putojimo!

Siekiant išvengti reagentų garavimo ir užteršimo, po naudojimo jie turi būti sandariai uždaromi. Nesumaišykite buteliukų dangtelių.

SERION ELISA *classic* imuninis tyrimas yra galiojantis tik tada, jeigu yra išpildyti partijai specifiniai kokybės kontrolės sertifikato patikimumo reikalavimai.

7.2 Mėginių paruošimas ir laikymas

Lipeminius, hemolizinius arba geltos mėginius (serumo ar plazmos) reikia tirti atsargiai. Aiškiai užterštų mėginių tirti negalima. Serumai ar plazma (EDTA, citratas, heparinas), surinkti standartiniais laboratoriniais metodais, yra tinkami mėginiai. Mėginių negalima inaktyvuoti karščiu.

7.2.1 Mėginių skiedimas

Prieš atliekant testą, paciento mėginius (V_1) reikia skiesti skiedimo buferiniame tirpale (V_2) toliau aprašytu būdu:

$V_1+V_2 = 1+100$	Įlašinkite 10 μ l paciento mėginio Į kiekvieną 1000 μ l skiedimo buferinio tirpalo
-------------------	---

SERION ELISA *classic* Yersinia IgG

$V_1+V_2 = 1+19$	Įlašinkite 10 μ l paciento mėginio Į kiekvieną 190 μ l skiedimo buferinio tirpalo
------------------	--

SERION ELISA *classic* Yersinia IgM

Sąveika su reumatoidiniais faktoriais

Reumatoidiniai faktoriai yra autoantikūnai, daugiausiai IgM klasės, pirmiausia besijungiantys prie IgG imuninių kompleksų. Jeigu yra nespecifinių IgM antikūnų (reumatoidinių faktorių), gauti IgM tyrimo rezultatai gali būti klaidingai teigiami. Be to, egzistuoja tikimybė, kad silpnai prisijungę patogeniškai specifiniai IgM antikūnai gali būti išstumti stipriai prisijungusių IgG antikūnų, todėl bus gautas klaidingai neigiamas IgM rezultatas. Dėl to prieš IgM nustatymą mėginius būtina paveikti reumatoidinio faktoriaus absorbentais (SERION Rf absorbentas, užsakymo nr. Z200 (20 ml/100 testų)). Rf absorbcija atliekama paciento mėginį inkubuojant Rf skiedimo buferiniame tirpale 15 minučių kambario temperatūroje arba per naktį, kai temperatūra 4 °C. Tyrimo procedūra aprašyta atskirame instrukcijų vadove.

Prieš atliekant testą, reumatoidinio faktoriaus absorbentą (V_1) reikia skiesti 1+4 skiedimo buferiniame tirpale (V_2).

$V_1+V_2 = V_3(1+4)$	Įlašinkite 200 μ l Rf absorbento Į kiekvieną pridėkite po 800 μ l skiedimo buferinio tirpalo
----------------------	---

Paciento mėginiai (V_4) turi būti skiedžiami šiame Rf skiedimo buferiniame tirpale (V_3):

$V_4+V_3 = 1+100$	Įlašinkite 10 μ l paciento mėginio Į kiekvieną pridėkite po 1000 μ l Rf skiedimo buferinio tirpalo
-------------------	---

Tam, kad paruoštumėte homogeninį tirpalą, po skiedimo ir prieš lašindami mėginius į mikrotitrinę plokštelę, kruopščiai juos išmaišykite.

Lietuvių kalba

7.2.2 Mėginių laikymas

6

Paciento mėginių negalima laikyti ilgiau kaip 7 dienas esant 2-8 °C temperatūrai. Ilgiau laikyti galima esant \leq -20 °C temperatūrai. Venkite pakartotinio mėginių užšaldymo ir atitirpinimo. Skiestus mėginius galima laikyti savaitę esant 2-8 °C temperatūrai.

7.3 Rinkinio reagentų paruošimas

Prieš tyrimą visus reagentus palaikykite kambario temperatūroje.

7.3.1 Mikrotitrinės tyrimo juostelės

Mikrotitrinės tyrimo juostelės, pažymėtos patogenų ir imunoglobulinų klasės trumpiniais, supakuotos aliuminio maišelyje su desikantu. Norėdami atidaryti mikrotitrinės plokštelės aliuminio maišelį, nukirpkite tik viršutinę pažymėtą dalį. Tik tokiu būdu garantuosite tinkamą sandarumą naudodami vėliau. Išimkite nereikalingas įdubas iš rėmo ir sudėkite atgal į aliuminį maišelį. Gerai uždarykite maišelį tam, kad užtikrintumėte sandarias sąlygas. Nenaudokite juostelių, jeigu aliuminio maišelis yra pažeistas arba jeigu maišelis su likusiomis juostelėmis ir desikantu nebuvo sandariai uždaryti.

7.3.2 Kontrolinis serumas/standartinis serumas (paruoštas naudoti)

Kontroliniai ir standartiniai serumai yra paruošti naudojimui ir daugiau jų skiesti negalima. Per kiekvieną tyrimo procedūrą – nepriklausomai nuo naudojamo mikrotitrinių tyrimo juostelių skaičiaus – reikia įtraukti kontrolinius ir standartinius serumus. Standartinius ir ribinius serumus reikia nustatyti su pakartojimu. Neapdorokite kontrolinių serumų su Rf absorbentu.

7.3.3 Anti žmogaus IgA, IgG ar IgM AP konjugatas (paruoštas naudoti)

Reikalinga konjugato koncentracija (+, ++, +++) yra nurodyta kokybės kontrolės sertifikate. Taip pat žr. specifikacijas ant etiketės.

7.3.4 Plovimo tirpalas (koncentratas)

Plovimo buferinio tirpalo koncentratą (V_1) skieskite distiliuotu vandeniu, santykiu 1:30 iki galutinio tūrio – V_2 .

Pavyzdys:

Buferinio tirpalo koncentratas (V_1):	Galutinis tūris (V_2):
33,3 ml	1000 ml
1,0 ml	30 ml

7.3.5 Skiedimo buferinis tirpalas mėginiams (paruoštas naudoti)

7.3.6 Substratas (paruoštas naudoti)

Substratas neatidarytame buteliuke gali būti šviesiai geltonos spalvos. Tai nekeičia produkto kokybės!

7.3.7 Stabdymo tirpalas (paruoštas naudoti)

Lietuvių kalba

7

7.4 Bendra informacija – tyrimo procedūra

SERION ELISA classic
Yersinia IgA/IgG/IgM
kiekybinis

Nustatydami IgM, atlikite reumatoidinio faktoriaus absorbavimą, žr. 7.2.1.
15 minučių inkubuokite kambario temperatūroje arba per naktį esant 4 °C temperatūrai.

Mėginio skiedimas¹:
(Paciento mėginiai)
IgG: 1+19
IgA/IgM: 1+100

Įlašinkite skiestus mėginius ir paruoštus naudojimui kontrolinius/standartinius serumus į mikrotesto šulinėlius
(100 µl)

↓
INKUBAVIMAS 60 minučių/37 °C
Drėkinimo kameroje

↓
PLOVIMAS (4x300 µl DIL WASH)²

↓
Įlašinkite konjugato tirpalo APC (100 µl)

↓
INKUBAVIMAS 30 minučių/37 °C
Drėkinimo kameroje

↓
PLOVIMAS (4x300 µl DIL WASH)²

↓
Įlašinkite substrato tirpalą pNPP (100 µl)

↓
INKUBAVIMAS 30 minučių/37 °C
Drėkinimo kameroje

↓
Įlašinkite stabdymo tirpalą STOP (100 µl)

↓
PAMATUOKITE GESINIMĄ esant 405 nm.

¹Specialūs skiedimo buferiniai tirpalai, skirti SERION ELISA *classic* tyrimams:
Borrelia burgdorferi IgG, IgM, EBV EA IgG ir *Hantavirus Puumala* IgG, IgM.

²Rankiniam naudojimui:
Plovimo procedūros pabaigoje paplekšnokite plokštelę ant popierinio rankšluosčio.

Lietuvių kalba

7.5 Rankinė tyrimo procedūra

8

1. Įdėkite reikiamą skaičių **įdubų į rėmą** ir paruoškite procedūros lapą.
2. Įlašinkite po **100 µl skiesto mėginio ar paruoštos naudojimui kontrolės** į atitinkamus mikrotitrinių tyrimo juostelių šulinėlius. Vieną šulinėlį palikite tuščią substrato kontrolei, pvz.:

Šulinėlis	Kiekybinis ELISA
A1	tuščias, substrato kontrolei
B1	neigiama kontrolė
C1	standartinis serumas
D1	standartinis serumas
E1	pacientas nr. 1...
F1	pacientas nr. 2...

3. **Mėginį inkubuokite** 60 minučių (+/-5 min) esant 37 °C (+/-1 °C) temperatūrai drėkinimo kameroje.
4. Po inkubavimo visus šulinėlius **plaukite** plovimo tirpalu (naudokite automatinę plautuvę arba viską atlikite rankiniu būdu):
 - išsiurbkite arba išpurtykite inkubavimo tirpalą;
 - kiekvieną šulinėlį pripildykite 300 µl plovimo tirpalu;
 - išsiurbkite arba išpurtykite plovimo buferinį tirpalą;
 - plovimo procedūrą pakartokite 3 kartus (iš viso 4 kartus!);
 - mikrotitrinę plokštelę nusausinkite, paplekšnodami ant popierinio rankšluosčio.
5. **Įlašinkite konjugatą.**
Į atitinkamus šulinėlius (išskyrus tuščią substrato kontrolei) pridėkite po 100 µl paruošto naudojimui IgA/IgG/IgM konjugato.
6. **Konjugatą inkubuokite** 30 minučių (+/- 1 min) esant 37 °C (+/-1 °C) temperatūrai drėkinimo kameroje.
7. Po inkubavimo visus šulinėlius **plaukite** plovimo tirpalu (žr. anksčiau).
8. **Įlašinkite substratą.**
Į kiekvieną šulinėlį (įskaitant tuščią šulinėlį substrato kontrolei!) pridėkite po 100 µl paruošto naudojimui substrato tirpalu.
9. **Substratą inkubuokite** 30 minučių (+/- 1 min) esant 37 °C (+/-1 °C) temperatūrai drėkinimo kameroje.
10. **Sustabdykite reakciją.**
Į kiekvieną šulinėlį įlašinkite po 100 µl stabdymo tirpalu, švelniai papurtykite mikrotitrinę plokštelę, kad išsimaišytų.
11. **Pamatuokite gesinimą.**
Per 60 minučių pamatuokite optinį tankį (OD) esant 405 nm, remdamiesi substrato kontrolės šulinėliu; palyginamasis bangos ilgis 620-690 nm intervale (pvz., 650 nm).

7.6 Automatinė tyrimo procedūra

SERION ELISA gali būti apdorotas automatiškai ir įvertintas naudojimui su Immunomat™ ir Gemini bei DYNEX DSX® ir DS2®. Automatinis apdorojimas atliekamas analogiškai kaip rankinis. Prašom įsidėmėti, kad tam tikromis darbinėmis sąlygomis gali tekti atlikti vidinius laboratorinius inkubavimo laiko pritaikymus.

Lietuvių kalba

7.7 Teigiama kontrolė / tikslumo kontrolė

Siekiant, kad tyrimo metodas atitiktų laboratorijos vidinių kokybės valdymo sistemų reikalavimus ir periodiškai jį tikrinant, mes rekomenduojame naudoti SERION ELISA *kontroles*, kad būtų nustatytas SERION ELISA

classic tyrimo procedūrų jautrumas ir tikslumas. SERION ELISA *kontrolių* naudojimas yra aprašytas specialiuose instrukcijų vadovuose.

8 TYRIMO VERTINIMAS

8.1 SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM

Matematinė kreivė, tinkanti antikūnų kiekybiniam apskaičiavimui SERION ELISA *classic* imuniniu tyrimu yra paremta 4 parametrų logaritmine (4 PL) funkcija.

$$Activity (U / ml) = e^{C - \frac{1}{B} \ln\left(\frac{D-A}{OD(Patient)*F-A}\right)}$$

4 parametrai A, B, C ir D parodo tikslią standartinės kreivės formą:

A parametras:	Apatinė asimptotė (OD)
B parametras:	Kreivės nuolydis
C parametras:	Išlinkio taškas
D parametras:	Viršutinė asimptotė (OD)

Institut Virion/Serion GmbH nustato kiekvienai partijai specifinę 4 PL standartinę kreivę skirtingam SERION ELISA *classic* imuniniam tyrimui, esant pakartotinėms tyrimo procedūroms, optimaliomis sąlygomis. Kiekvienam individualiam SERION ELISA *classic* testui kokybės kontrolės sertifikate nurodomi keturi parametrai.

Testo lygio pritaikymui duotajai 4 PL standartinei kreivei, korekcijos veiksnys F yra apskaičiuojamas standartinę palyginamąją optinio tankio OD vertę, nurodytą kokybės kontrolės sertifikate, dalinant iš pamatuotos vertės, vadinasi, iš testui specifinės standartinės OD vertės.

$$F = \frac{STD \text{ reference OD value}}{\text{measured STD OD value}}$$

OD vertes, gautas iš paciento mėginių, dauginant iš korekcijos veiksnio F, kiekvieno individualaus testo lygis yra pritaikomas duotajai 4 PL standartinei kreivei. Todėl nuokrypiai tarp tyrimų yra kompensuojami, o antikūnų aktyvumai gali būti tiesiogiai įvertinami iš 4 PL standartinės kreivės.

Po substrato kontrolės atėmimo iš visų pamatuotų OD verčių ir standartinio serumo (STD) OD vertės vidurkio apskaičiavimo, tyrimus atliekant dviem pakartojimais, pacientų mėginių optinio matavimo signalų (OD) antikūnų aktyvumo įvertinimui galimos įvairios galimybės. Jos apibūdinamos atskiruose naudotojo vadovuose.

8.2 Automatizuotas vertinimas / programinė įranga

Institut Virion\Serion GmbH rekomenduoja naudoti SERION easyANALYZE programinę įrangą automatiniam optinių matavimo signalų įvertinimui.

8.3 Ribiniai intervalai

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM testų ribiniai intervalai yra nurodyti kokybės kontrolės sertifikatuose ir rodo ribinių tyrimo rezultatų intervalą. Vertės, esančios žemiau šio intervalo, rodo neigiamą tyrimo rezultatą; vertės, esančios virš ribinio intervalo, yra interpretuojamos kaip teigiamos.

8.4 Kiekio nustatymo ribos

Kiekio nustatymo ribos yra nurodytos SERION ELISA *classic* Yersinia IgA/IgG/IgM testų kokybės kontrolės sertifikatuose. Skiedimo tiesiškumas šiose ribose buvo parodytas išsamaus vertinimo tyrimo metu. Jei paciento mėginio tyrimo rezultatas viršija viršutinę kiekio nustatymo ribą, mėginys gali būti tiriamas jį labiau praskiedus. Taip nustatytą antikūno aktyvumą reikia padauginti iš papildomo skiedimo faktoriaus.

8.5 Automatinis įvertinimas/programinė įranga

Automatiniam optinio matavimo signalų įvertinimui pagal užklausimą galite gauti vertinimo programinę įrangą SERION easyANALYZE, programinę įrangą SERION *evaluate* ir Microsoft® Excel pagrindo programinės įrangos įrankį SERION *activity*.

8.6 Patikimumo kriterijai

- Substrato kontrolės OD turi būti $< 0,25$.
- Neigiama kontrolė turi rodyti neigiamą tyrimo rezultatą.
- Atliekant kiekybinius SERION ELISA *classic* testus, standartinio serumo OD vidurkis (atėmus substrato kontrolę!) turi patekti į patikimumo intervalą, kuris yra nurodytas partijai specifiniame kokybės kontrolės sertifikate.
- Atliekant kokybinius SERION ELISA *classic* testus, teigiamos kontrolės ir ribinio serumo OD vidurkio vertės (atėmus substrato kontrolę!) turi patekti į patikimumo intervalą, kuris yra nurodytas partijai būdingame kokybės kontrolės sertifikate.
- Standartinio ar ribinio serumų OD verčių išsibarstymas negali būti didesnis negu 20 %.

Jeigu šie kriterijai nepatenkinami, testas yra negaliojantis ir turi būti pakartotas.

8.7 Rezultatų interpretavimas

Teigiamas testo rezultatas patvirtina specifinių antikūnų buvimą. Neigiamas rezultatas nurodo, kad paciento mėginyje nėra kliniškai susijusių antikūnų prieš patogeną, tačiau tai neleidžia atmesti ūmios infekcijos galimybės. Ribinių rezultatų atveju patikimas įvertinimas nėra galimas. Galutinė diagnozė gali būti gauta tik tiriant suporuotus serumo mėginius, lygiagrečiai paimtus vienos-dviejų savaičių intervale.

IgG, IgA ir IgM antikūnai yra aptinkami po užsikrėtimo *Yersinia*, o IgG antikūnai gali išlikti daugelį metų. Išleistoje literatūroje teigiama, kad įprastų Europos gyventojų serologinis paplitimas yra apytiksliai nuo 30 iki 45 %. Esant nekomplikuotam ūminiam atvejui, pirminės IgA ir IgM antikūnų infekcijos lygis per kelias savaites ar mėnesius sumažėja iki neaptinkamo. Antrinėms imunologinėms komplikacijoms, tokioms kaip artritas ir mazginė eritema, būdingas nuolatinis padidėjęs IgA titras, o IgM sumažėja kaip įprasta.

8.8 Sveikų asmenų palyginamieji intervalai

Tiriant atsitiktinių kraujo donorų serumus, paimtus pietų Vokietijos regione, su SERION ELISA *classic* Yersinia rezultatai pasiskirstė taip:

SERION ELISA <i>classic</i>	Kiekis	Neigiamas	Ribinis	Teigiamas
Yersinia IgA	105	91 (86.7 %)	7 (6.7 %)	7 (6.7 %)
Yersinia IgG	105	63 (60.0 %)	9 (8.6 %)	33 (31.4 %)
Yersinia IgM	105	103 (98.1 %)	2 (1.9 %)	-

9 NAŠUMO CHARAKTERISTIKOS

9.1 Jautrumas ir specifiškumas

SERION ELISA klasikinių Yersinia IgA ir IgG testų veikimo charakteristikos buvo įvertintos išanalizavus daugiau nei 150 serumo mėginių iš pacientų, kuriems įtariama jersinioze, sveikų kraujo donorų ir tarplaboratorinių tyrimų mėginius. SERION ELISA *classic* IgM veikimo charakteristikos buvo įvertintos naudojant 22 serumo mėginius iš pacientų, kuriems įtariama infekcija. Kaip pamatinis testas buvo naudojamas pirmaujančio Europos gamintojo ELISA ir imunoblotas. Kaip etaloniniai testai buvo naudojami pirmaujančių Europos gamintojų imunologiniai tyrimai. Serumai, klasifikuojami kaip ribiniai, nebuvo įtraukti į jautrumo ir specifiškumo skaičiavimą.

	Jautrumas	Specifiškumas
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgA	94.8 %	89.7 %
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgG	97.7 %	97.8 %
SERION ELISA <i>classic</i> Yersinia IgM	>99 %	90.0 %

9.2 Atkuriamumas

SERION ELISA *classic* Yersinia IgA:

Mėginys	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per tą patį bandymą (CV %)	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per kelis bandymus (CV %)
1 serumas	0.400	3.1	0.491	4.1
2 serumas	0.866	2.7	0.990	3.0
3 serumas	2.289	3.0	2.697	2.9

SERION ELISA classic Yersinia IgG:

Mėginys	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per tą patį bandymą (CV %)	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per kelis bandymus (CV %)
1 serumas	0.755	3.9	0.634	7.1
2 serumas	1.030	4.1	0.940	6.9
3 serumas	1.518	3.7	1.480	5.0

SERION ELISA classic Yersinia IgM:

Mėginys	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per tą patį bandymą (CV %)	Vidurkis (OD)	Variacijos koeficientas per kelis bandymus (CV %)
1 serumas	0.272	2.9	0.296	2.8
2 serumas	0.626	1.2	0.605	2.8
3 serumas	1.045	2.6	1.028	2.6

10 SAUGUMO PRIEMONĖS**10.1 Perspėjimai**

SERION ELISA *classic* turi naudoti kvalifikuotas personalas, susipažinęs su galiojančia laboratorine praktika. Su visais rinkinio reagentais ir žmogaus mėginiais dirbti reikia atsargiai, laikantis galiojančios laboratorinės praktikos.

- Šiame rinkinyje yra žmogaus kraujo komponentų. Nors visi kontroliniai ir ribiniai serumai buvo tiriami ir buvo nustatyta, kad jie yra neigiami anti-ŽIV-ab, HBs-Ag (hepatito B viruso paviršiaus antigenui) ir anti-HCV-ab, juos reikia laikyti potencialiai užkrečiamais.
- Nesiurbkite pipetės burna.
- Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite tose vietose, kur dirbate su mėginiais ar rinkinio reagentais.
- Dirbdami su rinkinio reagentais ar mėginiais, mūvėkite vienkartinės pirštines, vilkėkite laboratorinį chalata ir nešiokite apsauginius akinius. Po darbo kruopščiai nusiplaukite rankas.
- Po tyrimo procedūros paciento ir kita potencialiai užkrečiama medžiaga turi būti nukenksminama.
- Reagentai turi būti laikomi saugiai, taip, kad nebūtų laisvai prieinami, pvz., vaikams.

10.2 Utilizavimas

Prašom laikytis atitinkamų įstatyminių reikalavimų.

11. LITERATŪRA

Su SERION ELISA *classic* Yersinia susijusį literatūros sąrašą galima rasti šio instrukcijų vadovo pabaigoje.

Certificate transfer

20250630

Phone: +49 931 / 30 45 0

Mail: regulatory@virion-serion.de

Dear Sir or Madam,

IVDR certificate

In February 2025 we have informed you about the achievement of the IVDR certification for our class B and C products of the following product groups:

- SERION ELISA *classic* (ESRxxx)
- SERION ELISA *antigen* (ESR200)
- SERION ELISA *control* (BCxxx)
- SERION *immunoCONTROL* (ICxxx)
- SERION ELISA AI *control* (CLSxxx)
- SERION ELISA Avidity Control (BRxxxAVID)
- SERION ELISA Avidity Reagent (BxxxAVID)
- SERION RF Absorbent (Z200)

It is certified that requirements according to REGULATION (EU) 2017/746 on In Vitro Diagnostic Medical Devices Annex IX Chapter I, Section 2 and 3 and Chapter III are fulfilled for the covered products of class B as well as class C products.

With this mailing we would like to inform you that the current IVDR certificates are being transferred to another Notified Body, TÜV Süd (number 0123).

The IVDR certificate will be issued by TÜV Süd with the corresponding number 0123. Please note that the content of the certificate remains unchanged and therefore the certificate transfer does not affect the certification status of our products. A change will apply for the labelling of the devices as the number of the new Notified Body will be implemented for labels, Instructions for Use (IFU) and Declarations of Conformity (DoC).

virion\serion

Institut Virion\Serion GmbH Friedrich-Bergius-Ring 19, 97076 Würzburg, Germany

Phone +49 931 3045 0 Fax +49 931 3045 100 Mail diagnostics@virion-serion.de Web www.virion-serion.de

The effective date for certificate transfer is **June 30, 2025**.

The certificate is shared on our homepage here: [Quality and Certificates | Virion\Serion \(virion-serion.de\)](https://www.virion-serion.de/Quality-and-Certificates-Virion-Serion)

From July 1, 2025, newly produced product lots will be labelled with the new number 0123.

Updated DoCs, IFUs and labels will be made available upon request after July 1, 2025. Please let us know which information is required from your side.

The change of labelling will be implemented successively for the individual products and depends on the production schedule. Within a transition period of 18 months all products will carry the new labelling.

The CE with number of Notified Body will be removed from component labels of device components as this is not mandatory for components.

EN ISO 13485 certificate

The EN ISO 13485 certificate has been transferred to TÜV Süd (number 0123) and validity date is from 2025-05-30. The certificate number is Q5 131304 0001 Rev. 00. The scope has been extended regarding the instruments for infection diagnostics.

The certificate is shared on our homepage here: [Quality and Certificates | Virion\Serion \(virion-serion.de\)](https://www.virion-serion.de/Quality-and-Certificates-Virion-Serion)

If you have any further questions or comments, don't hesitate to contact us.

We thank you for your understanding and cooperation.

With best regards,

Institut Virion\Serion GmbH



EU Quality Management System Certificate

Regulation (EU) 2017/746 on in Vitro Diagnostic Medical Devices, Annex IX Chapter I

Certificate No. V13 131304 0003 Rev. 00

Manufacturer: **Institut Virion\Serion GmbH**
Friedrich-Bergius-Ring 19
97076 Würzburg
GERMANY

SRN Manufacturer - DE-MF-000007582

The quality management system has been evaluated in accordance with Regulation (EU) 2017/746, Annex IX Chapter I with a positive result.

Details on devices covered by the quality management system are described on the following page(s). The report referenced below summarises the results of the assessment and includes reference to relevant CS, harmonised standards and test reports.

The certified quality management system is subject to periodical surveillance.

If class A devices in sterile conditions are covered by this certificate, the audit was limited to the aspects relating to establishing, securing, and maintaining sterile conditions.

If class B or C excluding self-/near-patient-testing, or class C companion diagnostics devices are covered by this certificate, the quality management system assessment was accompanied by the assessment of technical documentation for devices selected on a representative basis. The periodical surveillance includes further assessment of the technical documentation on the basis of representative samples.

If class D devices, class B or C self-/near-patient testing, or class C companion diagnostics devices are covered by this certificate, an EU Technical Documentation Assessment Certificate in accordance with Annex IX Chapter II is required before placing them on the market.

All applicable requirements of the Testing, Certification, Validation and Verification Regulations TÜV SÜD Group have to be complied with.

For details and certificate validity see: www.tuvsud.com/ps-cert?q=cert:V13 131304 0003 Rev. 00

Report No.: 713371585
Valid from: 2025-07-01
Valid until: 2029-05-15

Marta Carnielli
Head of Certification IVD

Issue date: 2025-07-01



EU Quality Management System Certificate

Regulation (EU) 2017/746 on in Vitro Diagnostic Medical Devices, Annex IX Chapter I

Certificate No. V13 131304 0003 Rev. 00

Classification: Class B
Device Group: IVR 0503 - Infectious agent detection: Presence of, or exposure to an infectious agent
Intended Purpose: Devices intended to be used to detect the presence of, or exposure to an infectious agent

Classification: Class C
Device Group: W0105 + IVP 3007 - Infectious diseases
Intended Purpose: IVD Reagents for Infectious diseases

The validity of this certificate depends on conditions and/or is limited to the following: -none-

Rev.	Dated	Report	Description
00	2025-07-01	713371585	Initial issuance

Yersinia IgA Serum 1:100

YerA5.0.2

No password protection.

Written by Virion\Serion GmbH.

Date created: 2007 m. geguže 15 d., antradienis 10:26:02.

Last edited: 2024 m. liepa 8 d., pirmadienis 10:50:11.

Plate ID Check: *

Generic 96 well plate type.

Maximum tolerable ambient temperature is 28,0°C.

Combination group: 0

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SLW1	T5	T13	T21	T29	T37	T45	T53	T61	T69	T77	T85
B	NC1	T6	T14	T22	T30	T38	T46	T54	T62	T70	T78	T86
C	STD1	T7	T15	T23	T31	T39	T47	T55	T63	T71	T79	T87
D	STD1	T8	T16	T24	T32	T40	T48	T56	T64	T72	T80	T88
E	T1	T9	T17	T25	T33	T41	T49	T57	T65	T73	T81	T89
F	T2	T10	T18	T26	T34	T42	T50	T58	T66	T74	T82	T90
G	T3	T11	T19	T27	T35	T43	T51	T59	T67	T75	T83	T91
H	T4	T12	T20	T28	T36	T44	T52	T60	T68	T76	T84	T92

Pipette

Predilution

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 210ul from DILB (speed 2).

Aspirate 10ul from patient sample (speed 1).

Dispense 210ul into dilution plate ("Dilution 1:101") (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Dilb

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 800ul from DILB (speed 2).

Dispense 800ul into dilution plate ("Dilution 1:101") (speed 5).

Incubate

Incubate for 1 (+15,-0) minutes at room temperature.

Incubate in ambient light.

--- Scheduling break ---

Pipette

NC

Pipette into wells B1.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 110ul from Yersinia A NC (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Std

Pipette into wells C1-D1.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 110ul from Yersinia A Std (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Sample 1:101

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 110ul from dilution plate ("Dilution 1:101") (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Incubate

Incubate for 60 (+5,-5) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Wash

Perform 4 x 300ul wash cycles using Wash buffer on strips 1-12.

Dispense rate 75.

With aspirate sweep.

Partial plate mode: as quick as possible.

Perform 2 aspirate cycle(s) on strips 1-12.
With aspirate sweep.

Partial plate mode: as quick as possible.

Dispense

Add 8x100ul (+50ul oversoak) of APC (Conjugate) IgA (3/3) into wells B1-H12.

Incubate

Incubate for 30 (+1,-1) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Wash

Perform 4 x 300ul wash cycles using Wash buffer on strips 1-12.

Dispense rate 75.

With aspirate sweep.

Partial plate mode: as quick as possible.

Perform 2 aspirate cycle(s) on strips 1-12.

With aspirate sweep.

Partial plate mode: as quick as possible.

Dispense

Add 8x100ul (+50ul oversoak) of pNPP (Substrate) (2/3) into wells A1-H12.

Incubate

Incubate for 25 (+1,-1) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Dispense

Add 8x100ul (+50ul oversoak) of STOP (2/3) into wells A1-H12.

Read

Reader settings

Shake for 5 seconds.

Using wavelengths: 405nm,620nm.

Average inputs. Use arithmetic mean.

Report results to 3 decimal places.

Auto scientific mode for:

Average blank mode.

Blank calculation on final results only.

Validation criteria

SLW<0.25

0.5*RefValue<=Std<=1.7*RefValue

0.8<=STD1.1/Std1.2<=1.25

NC<lcutoff*Std

Full V.C. report.

Do not display results if V.C. fails.

Qualitative Settings

If 'Sample<lcutoff*Std' Then Result:='neg'

If 'Sample>ucutoff*Std' Then Result:='pos'

Default result := ?

- pos Indicates a positive result
- ? Indicates an equivocal result
- neg Indicates a negative result

No histogram required

Average inputs. Use arithmetic mean.

Report results to 3 decimal places.

Auto scientific mode for:

Quantitative

STD1 = 0 U/mL

Average standard replicates.

Virion data model.

Show predicted standard values.

Display a concentration graph.

X axis settings: label: 'auto.', minimum=5, maximum=100, units=auto., show gridlines, logarithmic

Y axis settings: label: 'auto.', minimum=0, maximum=3, units=1, show gridlines

Dilutions:

T1 = 1	T2 = 1	T3 = 1	T4 = 1
T5 = 1	T6 = 1	T7 = 1	T8 = 1

T9 = 1	T10 = 1	T11 = 1	T12 = 1
T13 = 1	T14 = 1	T15 = 1	T16 = 1
T17 = 1	T18 = 1	T19 = 1	T20 = 1
T21 = 1	T22 = 1	T23 = 1	T24 = 1
T25 = 1	T26 = 1	T27 = 1	T28 = 1
T29 = 1	T30 = 1	T31 = 1	T32 = 1
T33 = 1	T34 = 1	T35 = 1	T36 = 1
T37 = 1	T38 = 1	T39 = 1	T40 = 1
T41 = 1	T42 = 1	T43 = 1	T44 = 1
T45 = 1	T46 = 1	T47 = 1	T48 = 1
T49 = 1	T50 = 1	T51 = 1	T52 = 1
T53 = 1	T54 = 1	T55 = 1	T56 = 1
T57 = 1	T58 = 1	T59 = 1	T60 = 1
T61 = 1	T62 = 1	T63 = 1	T64 = 1
T65 = 1	T66 = 1	T67 = 1	T68 = 1
T69 = 1	T70 = 1	T71 = 1	T72 = 1
T73 = 1	T74 = 1	T75 = 1	T76 = 1
T77 = 1	T78 = 1	T79 = 1	T80 = 1
T81 = 1	T82 = 1	T83 = 1	T84 = 1
T85 = 1	T86 = 1	T87 = 1	T88 = 1
T89 = 1	T90 = 1	T91 = 1	T92 = 1
NC1 = 1			

Result annotation:
 IF(x(y)<5,Result:='<5',,)
 IF(x(y)>100,Result:='>100',,)
 IF(y<=A*(Std/RefValue),Result:='<5',,)
 IF(y>=D*(Std/RefValue),Result:='>100',,)
 IF(y<0,0,Result:='<5',,)
 IF(y>3,0,Result:='>100',,)
 Average inputs. Use arithmetic mean.
 Report results to 1 decimal places.
 Auto scientific mode for:
 Header:

Report Settings

Header:	&I	&D	&Q
Body:		Laboratory Details Assay Header Lot Specific Values Validation criteria Quantitative Results 1 Combined Report	
Footer:	&V &F		&S &P

Combined Report
 Table of results :- Patient ID, Well Location, Reader value, Quant. 1 value, Qual. value, Flag
 Table order: STD, NC, EC, T, PC, CO

ASTM E 1394 Quant. 1 mean

End of protocol

Yersinia IgG Serum 1:20

YerG5.0.2

No password protection.

Written by Virion\Serion GmbH.

Date created: 2007 m. geguže 15 d., antradienis 10:26:02.

Last edited: 2024 m. liepa 8 d., pirmadienis 10:52:02.

Plate ID Check: *

Generic 96 well plate type.

Maximum tolerable ambient temperature is 28,0°C.

Combination group: 0

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SLW1	T5	T13	T21	T29	T37	T45	T53	T61	T69	T77	T85
B	NC1	T6	T14	T22	T30	T38	T46	T54	T62	T70	T78	T86
C	STD1	T7	T15	T23	T31	T39	T47	T55	T63	T71	T79	T87
D	STD1	T8	T16	T24	T32	T40	T48	T56	T64	T72	T80	T88
E	T1	T9	T17	T25	T33	T41	T49	T57	T65	T73	T81	T89
F	T2	T10	T18	T26	T34	T42	T50	T58	T66	T74	T82	T90
G	T3	T11	T19	T27	T35	T43	T51	T59	T67	T75	T83	T91
H	T4	T12	T20	T28	T36	T44	T52	T60	T68	T76	T84	T92

Pipette

Predilution

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 210ul from DILB (speed 2).

Aspirate 40ul from patient sample (speed 1).

Dispense 240ul into dilution plate ('Dilution 1:16') (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Dilb

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 400ul from DILB (speed 2).

Dispense 400ul into dilution plate ('Dilution 1:16') (speed 5).

Incubate

Incubate for 1 (+15,-0) minutes at room temperature.

Incubate in ambient light.

--- Scheduling break ---

Pipette

NC

Pipette into wells B1.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 110ul from Yersinia G NC (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Std

Pipette into wells C1-D1.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 110ul from Yersinia G Std (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Sample 1:20

Pipette into wells E1-H12.

Action on error: Raise alarm and stop

Aspirate 30ul from DILB (speed 2).

Aspirate 80ul from dilution plate ('Dilution 1:16') (speed 3).

Dispense 100ul into microplate (speed 3).

Passive wash: waste: 0,0 seconds, wash: 0,0 seconds, volume: 0ul.

Incubate

Incubate for 60 (+5,-5) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Wash

Perform 4 x 300ul wash cycles using Wash buffer on strips 1-12.

Dispense rate 75.

With aspirate sweep.
 Partial plate mode: as quick as possible.

Perform 2 aspirate cycle(s) on strips 1-12.
 With aspirate sweep.
 Partial plate mode: as quick as possible.

Dispense
 Add 8x100ul (+50ul oversoak) of APC (Conjugate) IgG (3/3) into wells B1-H12.

Incubate
 Incubate for 30 (+1,-1) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Wash
 Perform 4 x 300ul wash cycles using Wash buffer on strips 1-12.
 Dispense rate 75.
 With aspirate sweep.
 Partial plate mode: as quick as possible.

Perform 2 aspirate cycle(s) on strips 1-12.
 With aspirate sweep.
 Partial plate mode: as quick as possible.

Dispense
 Add 8x100ul (+50ul oversoak) of pNPP (Substrate) (2/3) into wells A1-H12.

Incubate
 Incubate for 25 (+1,-1) minutes at 37,0+/-1,0°C.

Dispense
 Add 8x100ul (+50ul oversoak) of STOP (2/3) into wells A1-H12.

Read
 Reader settings

Shake for 5 seconds.
 Using wavelengths: 405nm,620nm.
 Average inputs. Use arithmetic mean.
 Report results to 3 decimal places.
 Auto scientific mode for:

Average blank mode.
 Blank calculation on final results only.

Validation criteria
 SLW<0.25
 $0.5 * \text{RefValue} \leq \text{Std} \leq 1.7 * \text{RefValue}$
 $0.8 \leq \text{STD}1.1 / \text{Std}1.2 \leq 1.25$
 NC<lcutoff*Std
 Full V.C. report.
 Do not display results if V.C. fails.

Qualitative Settings
 If 'Sample<lcutoff*Std' Then Result:='neg'
 If 'Sample>ucutoff*Std' Then Result:='pos'
 Default result := ?

pos Indicates a positive result
 ? Indicates an equivocal result
neg Indicates a negative result

No histogram required
 Average inputs. Use arithmetic mean.
 Report results to 3 decimal places.
 Auto scientific mode for:

Quantitative
 STD1 = 0 U/mL
 Average standard replicates.
 Virion data model.
 Show predicted standard values.
 Display a concentration graph.
 X axis settings: label: 'auto.', minimum=5, maximum=500, units=auto., show gridlines, logarithmic
 Y axis settings: label: 'auto.', minimum=0, maximum=3, units=1, show gridlines

Dilutions:
 T1 = 1 T2 = 1 T3 = 1 T4 = 1

T5 = 1	T6 = 1	T7 = 1	T8 = 1
T9 = 1	T10 = 1	T11 = 1	T12 = 1
T13 = 1	T14 = 1	T15 = 1	T16 = 1
T17 = 1	T18 = 1	T19 = 1	T20 = 1
T21 = 1	T22 = 1	T23 = 1	T24 = 1
T25 = 1	T26 = 1	T27 = 1	T28 = 1
T29 = 1	T30 = 1	T31 = 1	T32 = 1
T33 = 1	T34 = 1	T35 = 1	T36 = 1
T37 = 1	T38 = 1	T39 = 1	T40 = 1
T41 = 1	T42 = 1	T43 = 1	T44 = 1
T45 = 1	T46 = 1	T47 = 1	T48 = 1
T49 = 1	T50 = 1	T51 = 1	T52 = 1
T53 = 1	T54 = 1	T55 = 1	T56 = 1
T57 = 1	T58 = 1	T59 = 1	T60 = 1
T61 = 1	T62 = 1	T63 = 1	T64 = 1
T65 = 1	T66 = 1	T67 = 1	T68 = 1
T69 = 1	T70 = 1	T71 = 1	T72 = 1
T73 = 1	T74 = 1	T75 = 1	T76 = 1
T77 = 1	T78 = 1	T79 = 1	T80 = 1
T81 = 1	T82 = 1	T83 = 1	T84 = 1
T85 = 1	T86 = 1	T87 = 1	T88 = 1
T89 = 1	T90 = 1	T91 = 1	T92 = 1
NC1 = 1			

Result annotation:
 IF(x(y)<5,Result:='<5',,)
 IF(x(y)>500,Result:='>500',,)
 IF(y<=A*(Std/RefValue),Result:='<5',,)
 IF(y>=D*(Std/RefValue),Result:='>500',,)
 IF(y<0,0,Result:='<5',,)
 IF(y>3,0,Result:='>500',,)

Average inputs. Use arithmetic mean.
 Report results to 1 decimal places.
 Auto scientific mode for:
 Header:

Report Settings

Header:	&I	&D	&Q
Body:		Laboratory Details Assay Header Lot Specific Values Validation criteria Quantitative Results 1 Combined Report	
Footer:	&V &F		&S &P

Combined Report
 Table of results :- Patient ID, Well Location, Reader value, Quant. 1 value, Qual. value, Flag
 Table order: STD, NC, EC, T, PC, CO

ASTM E 1394 Quant. 1 mean

End of protocol