

НОРОВІРУС, РОТАВІРУС, АДЕНОВІРУС

КОМБІНОВАНА ТЕСТ-КАСЕТА ДЛЯ ШВИДКОГО ВИЗНАЧЕННЯ (КАЛ)

Кат. №: **LUA-RT.INRA.CC**
Форма: **касета**

Упаковка: **10 тесців**
Дата випуску інструкції: **25-02-2019**

Тільки для використання в *in vitro* діагностиці

ПРИЗНАЧЕННЯ

Комбінована тест-касета для швидкого визначення Норовірусу, Ротавірусу, Аденовірусу (Кал) — це швидкий хроматографічний імунологічний аналіз для якісного виявлення норовірусу, ротавірусу, та аденовірусу в зразках людського калу для допомоги в діагностиці норовірусної, ротавірусної або аденовірусної інфекції.

КОРОТКИЙ ОПИС

Тест для швидкого визначення норовірусу — це швидкий хроматографічний імунологічний аналіз для якісного виявлення норовірусу в зразках калу людини. Тест використовує антитіла, специфічні для норовірусу, для вибіркового виявлення норовірусу у зразках калу людини.

Норовіруси (NoV) — це генетично різноманітна група одноланцюгових РНК без оболонкових вірусів, що належать до родини *Caliciviridae*. Протягом десятиліть їх називали «маленькими круглими структурованими вірусами» (SRSV) або «вірусами, подібними до Норуока», доки нещодавно їх таксономію не дослідили за допомогою сучасних молекулярних методів. Спочатку було визнано чотири антигенні типи SRSV, але нещодавно було ідентифіковано три генотипи з родом *Norovirus*. Генотип 1 і генотип 2 пов'язані з інфекціями людини, тоді як генотип 3 пов'язаний з інфекціями великої рогатої худоби та свиней. Норовіруси є основною причиною гострого гастроентериту в усьому світі, часто викликаючи вибухові спалахи в установах. Вони дуже заразні, оскільки інюкуляція, що містить лише десять частинок, здатний викликати інфекцію. Передача відбувається через споживання зараженої їжі та води, а також через передачу від людини до людини. Передача відбувається переважно фекально-орально, але може відбуватися повітряно-крапельним шляхом через аерозолізацію блювотних мас, які зазвичай містять велику кількість інфекційних частинок вірусу. Спалахи можуть включати кілька шляхів передачі. Хвороба протікає гостро, зазвичай у легкій формі, хоча вона спричиняє летальні випадки серед немінних людей похилого віку, проходить самостійно та має інкубаційний період 24-48 годин, хоча випадки можуть виникати протягом 12 годин після контакту. Здатність норовірусів викликати спалахи в установах стала серйозною проблемою громадського здоров'я. Спалахи норовірусної інфекції можуть бути пов'язані з такими різноманітними установами як ресторани, будинки престарілих, лікарні та елітні спортивні табори. Інфекції у немовлят, літніх або немінних пацієнтів можуть бути летальними, якщо їх не лікувати.

Комбінований тест для визначення ротавірусу та аденовірусу — це швидкий хроматографічний імунологічний аналіз для якісного виявлення ротавірусу та аденовірусу в зразках калу людини, який дає результати через 15 хвилин. Тест використовує антитіла, специфічні для ротавірусу та аденовірусу, для вибіркового виявлення ротавірусу та аденовірусу у зразках калу людини.

Гостра діарея у дітей раннього віку є основною причиною захворюваності в усьому світі та основною причиною смертності в країнах, що розвиваються. Ротавірус є найпоширенішим збудником гострого гастроентериту, головним чином у маленьких дітей. Його відкриття в 1973 році та його зв'язок з інфантильним гастроентеритом став дуже важливим прогресом у вивченні гастроентериту, не викликаного гострою бактеріальною інфекцією. Ротавірус передається орально-фекальним шляхом з інкубаційним періодом 1-3 дні. Хоча зразки, взяті протягом другого та п'ятого дня хвороби, є ідеальними для виявлення антигену, ротавірус все ще може бути виявлений, поки діарея триває. Ротавірусний гастроентерит може призвести до смертності серед груп ризику, таких як немовлята, люди похилого віку та пацієнти з ослабленим імунітетом. У помірно кліматі ротавірусні інфекції виникають переважно в зимові місяці. Відомо про ендемію та епідемію, що вражають кілька тисяч людей. У госпіталізованих дітей, які страждають на гострі кишкові захворювання, до 50% проаналізованих зразків були позитивними на ротавірус. Віруси реплікуються в ядрі клітини та мають тенденцію бути специфічними для виду хазяїна, викликаючи характерний цитопатичний ефект (ЦПЕ). Оскільки ротавірус надзвичайно важко культивувати, використання виділення вірусу для діагностики інфекції незвичне. Замість цього були розроблені різноманітні методи виявлення ротавірусу в калі.

Дослідження показали, що ентеральні аденовіруси, насамперед Ad40 і Ad41, є основною причиною діареї у багатьох дітей, що поступають лише ротавірусам. Ці вірусні збудники були виділені в усьому світі та можуть викликати діарею у дітей цілий рік. Інфекції найчастіше спостерігаються у дітей віком до двох років, але зустрічаються у пацієнтів будь-якого віку. Подальші дослідження показують, що аденовіруси пов'язані з 4–15% усіх госпіталізованих випадків вірусного гастроентериту. Швидка та точна діагностика гастроентериту, викликаного аденовірусом, допомагає встановити етіологію гастроентериту та пов'язане з ним лікування пацієнтів. Інші методи діагностики, такі як електронна мікроскопія (ЕМ) і гібридизація нуклеїнових кислот, є дорогими та трудомісткими. Оскільки аденовірусна інфекція самообмежується, такі дорогі та трудомісткі тести можуть не знадобитися.

ПРИНЦИП

Тест для швидкого визначення норовірусу — це якісний імунологічний аналіз з бічним потоком для виявлення норовірусу в зразках калу людини. В аналізі використовуються специфічні моноклональні антитіла Генотипу 1 і Генотипу 2, нанесені на тестову мембрану. Під час тестування зразок калу реагує з кон'югатом антитіл. Суміш мігрує вгору по мембрані хроматографічним шляхом за допомогою капілярної дії, реагуючи з антитілами Генотипу 1 і 2 на мембрані та генеруючи кольорову лінію на рівні зоні Т1 і Т2 відповідно. Наявність кольорової лінії в області Т1 вказує на позитивний результат для Генотипу 1 і в області Т2 для Генотипу 2 відповідно, тоді як її відсутність вказує на негативний результат. Щоб служити процедурним контролем, у зоні контрольної реакції (С) завжди з'являтиметься кольорова лінія, яка вказуватиме на те, що додано належний об'єм зразка та відбулося зволоження мембрани.

Комбінований тест для швидкого визначення ротавірусу та аденовірусу — це якісний імунологічний аналіз з бічним потоком для виявлення ротавірусу та аденовірусу в зразках калу людини.

У цьому тесті мембрану попередньо покривають антитілами до ротавірусу на ділянці тестової лінії Т2 тесту та антитілами до аденовірусу на ділянці тестової лінії Т1 тесту. Під час тестування зразок реагує з частинкою, покритою антитілами до ротавірусу та антитілами до аденовірусу. Суміш мігрує вгору по мембрані хроматографічним шляхом за допомогою капілярної дії, реагуючи з антитілами до ротавірусу та антитілами до аденовірусу на мембрані та створюючи кольорову лінію. Наявність цих кольорових ліній в області тестової лінії вказує на позитивний результат, тоді як їх відсутність вказує на негативний результат. Щоб служити процедурним контролем, у зоні контрольної лінії завжди з'являтиметься кольорова лінія, яка вказуватиме на те, що було додано належний об'єм зразка та відбулося зволоження мембрани.

РЕАГЕНТИ

Тест для швидкого визначення норовірусу

Тест містить частинки, покриті моноклональними антитілами до норовірусу Генотипу 1 і Генотипу 2, і моноклональні антитіла Генотипу 1 і Генотипу 2, нанесені на мембрану.

Комбінований тест для швидкого визначення ротавірусу та аденовірусу

Тест містить частинки, вкриті антитілами до ротавірусу та антитілами до аденовірусу, і антитілами до ротавірусу та антитілами до аденовірусу, нанесеними на мембрану.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Тільки для професійного застосування в *in vitro* діагностиці. Не використовувати після закінчення терміну придатності.
- Тест-касета повинна залишатись у закритій упаковці до початку використання.
- Не їжте, не пийте та не куріть у місці, де працюють зі зразками чи наборами.
- Не використовуйте тест, якщо упаковка пошкоджена.
- Поводьтеся з усіма зразками так, ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтеся встановлених запобіжних заходів проти мікробіологічної небезпеки під час тестування та дотримуйтеся стандартних процедур для належної утилізації зразків.
- Одягайте захисний одяг, такий як лабораторні халати, одноразові рукавички та засоби захисту для очей під час тестування зразків.
- Використаний тест слід утилізувати згідно з місцевими правилами.
- Вологість і температура можуть негативно вплинути на результати.

ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ

Зберігати набір запакованим при кімнатній температурі або в холодильнику (2-30 °C (°C)). Тест стабільний протягом усього терміну придатності, зазначеного на герметичній упаковці. Тест повинен залишатись в цій упаковці до використання. **НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ.** Не використовувати після закінчення терміну придатності.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Виявлення вірусу покращується шляхом збору зразків при появі симптомів. Відомо, що максимальне виділення норовірусу, ротавірусу та аденовірусу з фекаліями пацієнтів хворих на гастроентерит відбувається через 3-5 днів після появи симптомів. Якщо зразки зібрані через тривалий час після появи симптомів діареї, кількість антигену може бути недостатньою для отримання позитивної реакції або виявлені антигени можуть не бути пов'язані з епізодом діареї.
2. Зразок калу необхідно зібрати в чистий, сухий, водонепроникний контейнер, який не містить миючих засобів, консервантів або транспортних середовищ.
3. Перед використанням доведіть необхідні реагенти до кімнатної температури.

МАТЕРІАЛИ

Матеріали, які постачаються з набором

- Тест-касети
- Інструкція
- Дозатори
- Пробірки для забору з екстракційним буфером

Необхідні матеріали, але не надані з набором

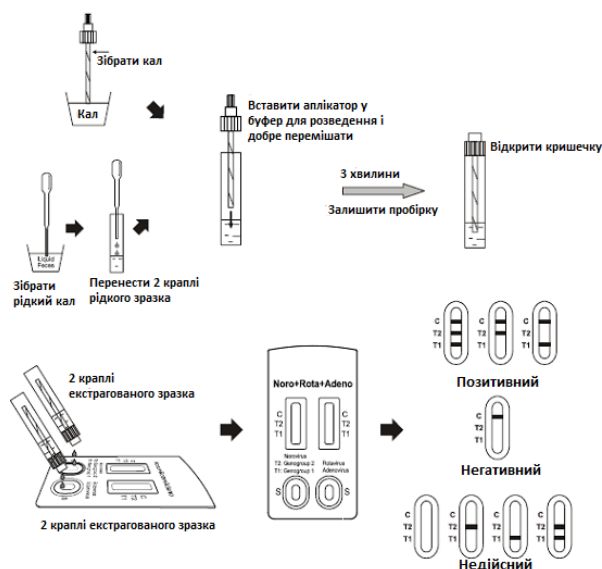
- Контейнери для забору зразків
- Центрифуга та піпетка на 80 мкл (μL), якщо потрібно

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Перед тестуванням довести тест, зразок, екстракційний буфер до кімнатної температури (15-30 °C (°C)).

1. Щоб зібрати зразки калу:
Зберіть достатню кількість калу (1-2 мл (mL) або 1-2 г (g)) у чистий сухий контейнер для збору зразків, щоб отримати достатню кількість вірусних частинок. Найкращі результати будуть отримані, якщо аналіз буде проведено протягом 6 годин після збору. Зібраний зразок можна зберігати протягом 3 днів при 2-8°C (°C), якщо не тестувати протягом 6 годин. Для тривалого зберігання зразки повинні зберігатися при температурі нижче -20°C (°C).
2. Для обробки зразків калу:
 - Для **твердих зразків**:
Відкрити кришечку пробірки для збору зразків, потім доволно вставте аплікатор для збору зразків у зразок калу **принаймні в 3 різних місцях**, щоб зібрати приблизно **50 мг (mg)** калу (еквівалент 1/4 горошини). Не зачерпуйте зразок калу.
 - Для **рідких зразків**:
Тримайте дозатор вертикально, аспіруйте зразки калу, а потім перенесіть 2 краплі рідкого зразка (приблизно 50 мкл (μL)) у пробірку для збору зразків, що містить екстракційний буфер.Закрутіть кришечку на пробірку для збору зразків, **потім енергійно струсіть пробірку для збору зразків**, щоб змішати зразок і екстракційний буфер. Залишіть пробірку для реакції на 3 хвилини.
3. Вийміть тест-касету з пакета з фольги та використайте її протягом однієї години. Найкращі результати будуть отримані, якщо тест буде виконано відразу після відкриття пакета з фольги.
4. Тримайте пробірку для збору зразків вертикально та **відкрити кришечку** пробірки для збору зразків. Переверніть пробірку для збору зразків і **перенесіть 2 повні краплі екстрагованого зразка** (приблизно 80 мкл (μL)) у кожну лунку для зразка тест-касети, а потім запустіть таймер. Уникайте утворення бульбашок повітря в лунках для зразків. Дивіться ілюстрацію нижче.
5. **Прочитайте результат через 15 хвилин** після додавання зразка. Не інтерпретуйте результат через 20 хвилин.

Примітка. Якщо зразок не мігрує (наявність частинок), відцентрифугуйте екстрагований зразок, який міститься у флаконі з екстракційним буфером. Зберіть 80 мкл (μL) супернатанту, розподіліть в лунку для зразка (S). Запустіть таймер і продовжуйте, починаючи з кроку 5 у наведених вище інструкціях з використання.



ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

(Будь ласка, зверніться до ілюстрації вище)

Вікно норовірусу:

Геногрупа 1 і 2 ПОЗИТИВНА: *З'являються три чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в зоні контрольної лінії (C), а видимі кольорові лінії повинні бути в області Геногрупи 1 (T1) і області Геногрупи 2 (T2).

Геногрупа 1 ПОЗИТИВНА: *З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в зоні контрольної лінії (C), а інша видима кольорова лінія повинна бути в області Геногрупи 1 (T1).

Геногрупа 2 ПОЗИТИВНА: *З'являються дві чіткі кольорові лінії. Одна кольорова лінія повинна бути в зоні контрольної лінії (C), а інша видима кольорова лінія повинна бути в області Геногрупи 2 (T2).

***ПРИМІТКА:** Інтенсивність кольору в області тестової лінії може змінюватися залежно від концентрації антигену норовірусу, присутнього в зразку. Тому будь-який відтінок кольору в області тестової лінії слід вважати позитивним.

Рота/Адено вікно:

Позитивний результат на ротавірус: *Кольорова лінія з'являється в зоні контрольної лінії (C), а інша кольорова лінія з'являється в області лінії T2.

Позитивний результат на аденовірус: *Кольорова лінія з'являється в зоні контрольної лінії (C), а інша кольорова лінія з'являється в області лінії T1.

Позитивний результат на ротавірус та аденовірус: *Кольорова лінія з'являється в зоні контрольної лінії (C), а дві інші кольорові лінії з'являються в області тестової лінії T1 та T2 відповідно.

***ПРИМІТКА.** Інтенсивність кольору в області тестової лінії (T1/T2) буде змінюватися залежно від концентрації ротавірусних або аденовірусних антигенів, присутніх у зразку. Тому будь-який відтінок кольору в області тестової лінії (T1/T2) слід вважати позитивним.

НЕГАТИВНИЙ: Одна кольорова лінія з'являється в зоні контрольної лінії (C). Немає лінії на тестовій ділянці (T).

НЕДІЙСНИЙ: Контрольна лінія (C) не з'являється. Недостатній об'єм зразка або неправильна методика процедури тесту є найбільш ймовірними причинами не появи контрольної лінії. Переглянути процедуру і повторити тест з використанням нової тест-касети. Якщо це не дає бажаного результату, слід припинити використання тестового набору негайно і зв'язатися з регіональним дистриб'ютором.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Процедурний контроль включений у тест. Кольорова лінія, що з'являється в контрольній області (C) - це внутрішній процедурний контроль. Це підтверджує достатній об'єм зразка та правильну процедуру тестування. Контрольні стандарти не постачаються з цим набором; однак рекомендується, щоб позитивний і негативний контролю були протестовані як належно в лабораторній практиці, щоб підтвердити процедуру тесту та перевірити правильність виконання тесту.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. **Комбінована тест-касетка для швидкого визначення норовірусу/ротавірусу/аденовірусу (кал)** призначена лише для діагностики *in vitro*. Тест слід використовувати лише для виявлення норовірусу, ротавірусу та аденовірусу людини у зразках калу. За допомогою цього якісного тесту неможливо визначити ані кількісне значення, ані швидкість збільшення концентрації норовірусу, ротавірусу та аденовірусу людини.
2. **Комбінована тест-касетка для швидкого визначення норовірусу/ротавірусу/аденовірусу (кал)**, вказує лише на

- наявність норовірусу, ротавірусу та аденовірусу в зразку та не повинен використовуватися як єдиний критерій відповідності норовірусу, ротавірусу та аденовірусу як етіологічного агента діареї.
- Як і у випадку з усіма діагностичними тестами, усі результати необхідно інтерпретувати разом з іншою клінічною інформацією, доступною лікарю.
 - Якщо результат тесту негативний, а клінічні симптоми зберігаються, рекомендується додаткове тестування іншими клінічними методами. Негативний результат ні в якому разі не виключає можливості норовірусної, ротавірусної або аденовірусної інфекції з низькою концентрацією вірусних частинок.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Комбіновану тест-касету для швидкого визначення норовірусу/ротавірусу/аденовірусу (кал) порівнювали з іншими тестами та методом латексної аглютинації і він продемонстрував загальну точність понад 96.0%.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клінічна Чутливість, Специфічність та Достовірність

1. Норовірус

Ефективність тест-касети для швидкого визначення норовірусу було оцінено на 136 клінічних зразках. Результати показали, що відносна чутливість тест-касети для швидкого визначення норовірусу (кал) становить >99.9%, а відносна специфічність — 98.1%.

Тест-касету для швидкого визначення норовірусу порівняно з іншим тестом

Метод		Інший тест		Разом
Тест-касету для швидкого визначення норовірусу	Результати	Позитивний	Негативний	
	Позитивний	33	2	35
	Негативний	0	101	101
Разом		33	103	136

Відносна чутливість: 99.9% (95% CI*: 91.32%~99.92%); * Довірчі інтервали

Відносна специфічність: 98.1% (95% CI*: 93.16%~99.76%);

Точність: 98.5% (95% CI*: 94.79%~99.82%).

2. Ротавірус

Ефективність тест-касети для швидкого визначення ротавірусу оцінювали на 501 клінічних зразках, зібраних у дітей і молодих людей, у порівнянні з методом латексної аглютинації. Результати показують, що відносна чутливість тест-касети для швидкого визначення ротавірусу (кал) становить 97.3%, а відносна специфічність – 97.1%.

Метод		Латексна аглютинація		Разом
Тест-касету для швидкого визначення ротавірусу	Результати	Позитивний	Негативний	
	Позитивний	251	7	258
	Негативний	7	236	243
Разом		258	243	501

Відносна чутливість: 97.3% (95% CI*: 94.5%~98.9%); * Довірчі інтервали

Відносна специфічність: 97.1% (95% CI*: 94.2%~98.8%);

Точність: 97.2% (95% CI*: 95.4%~98.5%).

3. Аденовірус

Ефективність тест-касети для швидкого визначення аденовірусу було оцінено на 381 клінічних зразках, зібраних у дітей і молодих людей, у порівнянні з методом латексної аглютинації. Результати показують, що відносна чутливість тест-касети для швидкого визначення аденовірусу (кал) становить 95.2%, а відносна специфічність – 97.7%

Метод		Латексна аглютинація		Разом
Тест-касету для швидкого визначення аденовірусу	Результати	Позитивний	Негативний	
	Позитивний	251	7	258
	Негативний	7	236	243
Разом		258	243	501

Відносна чутливість: 95.2% (95% CI*: 89.8%~98.2%); * Довірчі інтервали

Відносна специфічність: 97.7% (95% CI*: 95.0%~99.1%);

Точність: 96.8% (95% CI*: 94.6%~98.4%).

Точність В аналізі

Точність в аналізі була визначена за допомогою 3 реплікатів трьох різних зразків, що містять різні концентрації антигену норовірусу, ротавірусу та аденовірусу. Зразки були правильно ідентифіковані у >99% випадків.

Точність між аналізами

Точність між аналізами було визначено за допомогою 3 незалежних аналізів на тих самих різних зразках, що містять різні концентрації антигену норовірусу, ротавірусу та аденовірусу. Три різні партії

комбінованої тест-касети для швидкого визначення норовірусу/ротавірусу/аденовірусу було протестовано протягом 3-денного періоду з використанням вищезазначених негативних і позитивних зразків. Зразки були правильно ідентифіковані у >99% випадків.

Перехресна реактивність

Перехресна реактивність з наступними організмами була вивчена при 1x10⁷ організмів/мл (organisms/ml). Наступні мікроорганізми були виявлені негативними при тестуванні за допомогою тест-касети для швидкого визначення норовірусу (кал).

<i>Corynebacterium diphtheria</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Shigella flexneri</i>	<i>Clostridium difficile</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>dysenteriae</i>	<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>E.coli</i>
	<i>Proteus mirabilis</i>	

Перехресна реактивність з наступними організмами була досліджена при 1.0 x 10⁹ організмів/мл (organisms/ml). Наступні мікроорганізми були виявлені негативними під час тестування за допомогою комбінованої тест-касети для швидкого визначення ротавірусу/аденовірусу (кал).

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Group B Streptococcus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i> Group C	<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Streptococcus Klebsiella</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>carrhalis</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
		<i>Chlamydia trachomatis</i>

Умовні позначення

	Увага, дивіться інструкції по застосуванню		Тестів в наборі		Не використовувати повторно
	Тільки для in vitro діагностики		Використати до		Кат. №
	Зберігати між 2-30 °C (°C)		№ партії		
	Не використовуйте, якщо пакет пошкоджений		Виробник		



ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»

вул. Петлюри, будинок 25

м. Івано-Франківськ,

Україна, 76018

Тел.: +38 (067) 000-20-22

Електронна адреса: info@labua.com.ua

