КОМБІНОВАНА ТЕСТ-КАСЕТА

ДЛЯ ШВИДКОЇ ДІАГНОСТИКИ АДЕНОВІРУСНОЇ ТА РОТАВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ (КАЛ)

Кат. № : ***I04-2F*** *Упаковка:* ***25 тестів***
Форма : ***касета*** *Дата випуску інструкції:* ***07-12-2017***

Тільки для використання в in vitro діагностиці

ПРИЗНАЧЕННЯ ВИКОРИСТАННЯ

Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) - це швидкий хроматографічний імуноаналіз для якісного виявлення ротавірусу та аденовірусу в зразках калу людини для допомоги в діагностиці ротавірусної або аденовірусної інфекції.

РЕЗЮМЕ

Гостра діарея у дітей раннього віку є основною причиною захворюваності в усьому світі і є основною причиною смертності в країнах, що розвиваються.[1] Ротавірус є найпоширенішим агентом, що викликає гострий гастроентерит, переважно у дітей раннього віку.[2] Його відкриття в 1973 році та його зв'язок з дитячим гастроентеритом представляли собою дуже важливий прогрес у вивченні гастроентериту, не викликаного гострою бактеріальною інфекцією. Ротавірус передається орально-фекальним шляхом з інкубаційним періодом 1-3 дні. Незважаючи на те, що зразки, взяті протягом другого та п'ятого дня хвороби, ідеально підходять для виявлення антигену, ротавірус все ще може бути виявлений, поки діарея триває. Ротавірусний гастроентерит може призвести до смертності серед груп ризику, таких як немовлята, літні люди та пацієнти з ослабленим імунітетом.[3] У помірному кліматі ротавірусні інфекції виникають переважно в зимові місяці. Повідомлялося про ендемії та епідемії, які вражали близько тисячі людей.[4] З госпіталізованими дітьми, які страждають від гострої внутрішньої хвороби, до 50% аналізованих зразків були позитивними на ротавірус.[5] Віруси реплікуються в ядрі клітини і мають тенденцію бути специфічними до виду носіїв, що викликає характерний цитопатичний ефект (CPE). Оскільки ротавірус надзвичайно важко культивувати, незвично використовувати ізоляцію вірусу для діагностики інфекції. Натомість розроблено різноманітні методики виявлення ротавірусу в калі.

Дослідження показали, що кишкові аденовіруси, насамперед Ad40 і Ad41, є основною причиною діареї у багатьох із цих дітей, другою причиною є ротавіруси.[6,7,8,9] Ці вірусні збудники були виділені в усьому світі, і вони можуть викликати діарею у дітей цілий рік. Інфекції найчастіше зустрічаються у дітей у віці до двох років, але зустрічаються у пацієнтів різного віку. Подальші дослідження показують, що аденовіруси пов'язані з 4-15% усіх госпіталізованих випадків вірусного гастроентериту.[5,6,7,8,9] Швидка та точна діагностика гастроентериту, спричиненого аденовірусом, допомагає встановити етіологію гастроентериту та пов'язане з ним ведення пацієнтів. Інші діагностичні методи, такі як електронна мікроскопія (EM) та гібридизація нуклеїнових кислот, дорогі та трудомісткі. Оскільки аденовірусна інфекція самообмежується, такі дорогі та трудомісткі тести можуть не знадобитися.

Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) - це швидкий хроматографічний імуноаналіз для якісного виявлення ротавірусу та аденовірусу в зразках калу людини, що дає результати за 10 хвилин. У тесті використовуються антитіла, специфічні до ротавірусу та аденовірусу, для селективного виявлення ротавірусів та аденовірусів у зразках калу людини.

ПРИНЦИП

Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) - це якісний латеральний імуноаналіз для виявлення аденовірусу та ротавірусу у зразках калу людини.

У цьому тесті мембрану попередньо покривають анти-ротавірусним антитілом на тестовій ділянці T1 та анти-аденовірусним антитілом на тестовій ділянці T2. Під час тестування зразок реагує з частинкою, покритою анти-ротавірусними антитілами та анти-аденовірусними антитілами. Суміш мігрує вгору по мембрані хроматографічно шляхом капілярної дії, щоб реагувати з анти-ротавірусним антитілом і анти-аденовірусним антитілом на мембрані і утворювати кольорову лінію. Наявність цих кольорових ліній в області тестової лінії свідчить про позитивний результат, а їх відсутність - про негативний результат. В якості процедурного контролю, кольорова лінія завжди з'являється в області контрольної лінії (C), що вказує на те, що був доданий відповідний об'єм зразка та відбулось достатнє зволоження мембрани.

РЕАГЕНТИ

Тест містить частинки, покриті анти-ротавірусними антитілами та анти-аденовірусними антитілами, а також анти-ротавірусні антитіла та анти-аденовірусні антитіла, нанесені на мембрану.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

- Тільки для професійного застосування в *in vitro* діагностиці. Не використовуйте після закінчення терміну придатності.
- Тест-касета повинна залишатися в герметичній упаковці до використання.
- Не їжте, не пийте та не паліть у зоні, де обробляється зразок чи набори.
- Не використовуйте тест, якщо пакет пошкоджений.
- Поводьтеся з усіма зразками так, ніби вони містять інфекційні агенти. Дотримуйтесь встановлених заходів безпеки щодо мікробіологічних небезпек протягом усього тестування та дотримуйтесь стандартних процедур правильної утилізації зразків.
- Під час тестування зразків одягайте захисний одяг, такий як лабораторний халат, одноразові рукавички та захист для очей.
- Використаний тест слід утилізувати відповідно до місцевих норм.
- 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-касета стабільна протягом усього терміну придатності, зазначеного на герметичній упаковці. Тест-касета повинна залишатися в цій упаковці з осушувачем до використання. **НЕ ЗАМОРОЖУВАТИ**. Не використовувати після закінчення терміну придатності.

ЗБІР І ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

1. Виявлення вірусів покращується шляхом збору зразків при появі симптомів. Повідомлялося, що максимальне виділення аденовірусу та ротавірусу з калом у хворих на гастроентерит відбувається через 3-5 днів після появи симптомів. Якщо зразки зібрані через довгий 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 детергентів, консервантів або транспортного середовища.
3. Перед використанням доведіть необхідні реагенти до кімнатної температури.

МАТЕРІАЛИ

Матеріали, які постачаються з набором

- Тестові касети
- Пробірки для збору зразків з екстракційним буфером
- Інструкція
- Піпетки

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором

- Контейнери для збору зразків
- Центрифуга і піпетка, щоб дозувати 80 мкл (µl), якщо потрібно
- Таймер

ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Перед тестуванням доведіть тест-касету, зразок та буфер до кімнатної температури (15-30 °C (°C)).

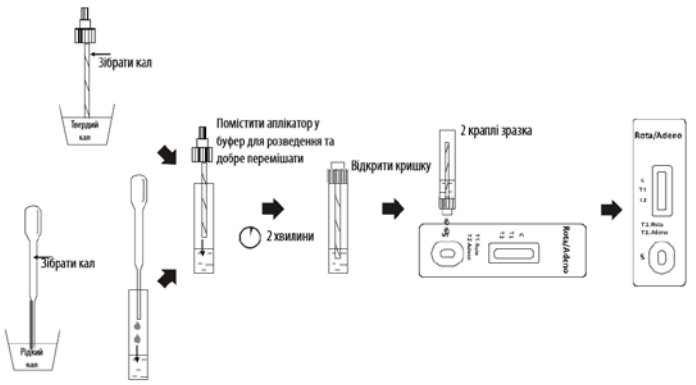
1. Щоб зібрати зразки калу:
   Зберіть достатню кількість калу (1-2 мл (ml) або 1-2 г (g)) у чисту, суху ємність для збору зразків для отримання достатньої кількості вірусних частинок. Найкращі результати будуть отримані, якщо аналіз буде виконано протягом 6 годин після збору. Зібрані зразки можна зберігати протягом 3 днів при температурі 2-8 °C (°C), якщо їх не проаналізовано протягом 6 годин. Для тривалого зберігання зразки слід зберігати нижче -20 °C (°C).
2. Для обробки зразків калу:
   - Для **твердих зразків**
     Відкрутіть ковпачок пробірки для збору зразків, а потім довільним чином **вставляйте аплікатор для збору зразків у зразок калу принаймні у 3 різних місцях**, щоб зібрати приблизно **50 мг (mg) калу** (еквівалентно 1/4 горошини). Не зачерпуйте зразки калу.
   - Для **рідких зразків**
     Тримайте піпетку вертикально, аспіруйте зразки калу, а потім перенесіть 2 краплі рідкого зразка (приблизно 50 мкл (µl)) у пробірку для збору зразків, що містить екстракційний буфер.

   Затягніть ковпачок на пробірці для збору зразків, а потім **інтенсивно струсіть пробірку для збору зразків**, щоб перемішати зразок і буфер для екстракції. Залиште пробірку в спокої на 2 хвилини.
3. Перед відкриттям пакета доведіть його до кімнатної температури. Вийміть тест-касету з пакета з фольги та використайте її якомога

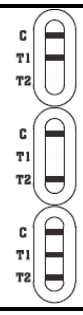
швидше. Найкращі результати будуть досягнуті, якщо випробування буде проведено одразу після відкриття пакета з фольги.

4. Тримайте пробірку для збору зразків вертикально і відкрутіть ковпачок на пробірці для збору зразків. Переверніть пробірку для збору зразків і перенесіть 2 повні краплі екстрагованого зразка (приблизно 80 мкл (µl)) у лунку для зразків (S) випробувальної касети, потім запустіть таймер. Уникайте потрапляння бульбашок повітря в лунку для зразків (S).
   Див. ілюстрацію нижче.
5. Зчитайте результати через **10 хвилин** після внесення зразка. Не читайте результати через 20 хвилин.

Примітка: Якщо зразок не мігрує (наявність частинок), центрифугуйте розбавлені зразки, що містяться у флаконі з екстракційним буфером. Зберіть 80 мкл (µl) надосадової рідини, внесіть в лунку для зразків (S). Запустіть таймер і продовжуйте від кроку 5, дотримуючись вищевказаних інструкцій.



ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ



ПОЗИТИВНИЙ:

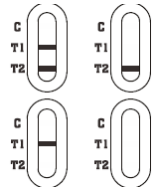
Позитивний на ротавірус: *Кольорова лінія з'являється в області контрольної лінії (C), а інша кольорова лінія з'являється в області лінії T1.

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

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

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

НЕГАТИВНИЙ: Одна кольорова лінія з'являється в області контрольної лінії (C). У зоні тестової лінії (T1/T2) не з'являється жодної лінії.



НЕДІЙСНИЙ: Контрольна лінія (C) не відображається. Недостатній об'єм зразка або неправильні методи процедури є найбільш вірогідними причинами не появи контрольної лінії. Перегляньте процедуру та повторіть тест з новою тест-касетою. Якщо проблема не зникає, негайно припиніть використання тестового набору та зверніться до місцевого дистриб'ютора.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Внутрішній процедурний контроль включений в тест. Кольорова лінія, що з'являється на контрольній ділянці (C), є внутрішнім позитивним процедурним контролем. Вона підтверджує додавання належної кількості зразка, належне зволоження мембрани і коректність проведення процедури.

Контрольні стандарти не поставляються разом з цим набором; тим не менш, належною лабораторною практикою рекомендується тестування позитивного і негативного контролів для підтвердження процедури тесту і контролю належної роботи тесту.

ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

1. Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) призначена лише для діагностики *in vitro*. Тест слід використовувати лише для виявлення ротавірусу та аденовірусу у зразках калу людини. За допомогою цього якісного тесту неможливо визначити ні кількісне значення, ні швидкість збільшення концентрації ротавірусу та аденовірусу людини.
2. Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) вказує лише на присутність ротавірусу та аденовірусу в зразку і не повинна використовуватися як єдиний критерій для того, щоб підтвердити, що відповідні ротавіруси та аденовіруси були етіологічними агентами діареї.
3. Як і в усіх діагностичних тестах, усі результати повинні інтерпретуватися разом з іншою клінічною інформацією, доступною для лікаря.
4. Якщо результат тесту негативний і клінічні симптоми зберігаються, рекомендується додаткове тестування з використанням інших клінічних методів. Негативний результат у будь-який момент не виключає можливості ротавірусної або аденовірусної інфекції з низькою концентрацією вірусних частинок.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ

Комбіновану тест-касету для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) було порівняно з методом латексної аглютинації, продемонструвавши загальну достовірність ≥ 97.0%.

РОБОЧІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Клінічна Чутливість, Специфічність та Достовірність

Ефективність Комбінованої тест-касети для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) було оцінено за допомогою клінічних зразків, зібраного у дітей та молодих людей, у порівнянні з методом латексної аглютинації. Результати показують, що Комбінована тест-касета для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал) має високу чутливість та специфічність до ротавірусу та аденовірусу.

Метод		**Латексна аглютинація**		**Загальні результати**
Експрес-тест на Ротавірус	**Результати**	Позитивний	Негативний	
	Позитивний	251	7	258
	Негативний	7	236	243
Загальні результати		258	243	501

Відносна чутливість: 97.3% (95%CI*: 94.5%~98.9%)
Відносна специфічність: 97.1% (95%CI*: 94.2%~98.8%)
Достовірність: 97.2% (95%CI*: 95.4%~98.5%)
*Довірчий Інтервал

Метод		**Латексна аглютинація**		**Загальні результати**
Експрес-тест на Аденовірус	**Результати**	Позитивний	Негативний	
	Позитивний	118	6	124
	Негативний	6	251	257
Загальні результати		124	257	381

Відносна чутливість: 95.2% (95%CI*: 89.8%~98.2%)
Відносна специфічність: 97.7% (95%CI*: 95.0%~99.1%)
Достовірність: 96.8% (95%CI*: 94.6%~98.4%)
*Довірчий Інтервал

Точність

В аналізі

Точність визначення в аналізі визначалась за допомогою 10 копій 7 зразків: негативного, ротавірус низькопозитивного, аденовірус низькопозитивного, ротавірус середньопозитивного, аденовірус середньопозитивного, ротавірус високопозитивного та аденовірус високопозитивного. Зразки були правильно ідентифіковані у > 99% випадків.

Між аналізами

Точність визначення між аналізами визначалася з використанням 10 копій тих же 7 зразків: негативного, ротавірус низькопозитивного, аденовірус низькопозитивного, ротавірус середньопозитивного, аденовірус середньопозитивного, ротавірус високопозитивного та аденовірус високопозитивного. Зразки були правильно ідентифіковані у > 99% випадків.

Перехресна реактивність

Перехресну реакцію з наступними організмами вивчали при $1.0x10^9$організмів/мл (ml). Наступні організми були виявлені негативними під час тестування за допомогою Комбінованої тест-касети для швидкої діагностики аденовірусної та ротавірусної інфекції (кал).

Staphylococcus aureus	*Proteus mirabilis*	*Neisseria gonorrhea*
Pseudomonas aeruginosa	*Acinetobacter spp*	*Group B Streptococcus*
Enterococcus faecalis	*Salmonella choleraesius*	*Proteus vulgaris*
Group C Streptococcus	*Gardnerella vaginalis*	*Enterococcus faecium*
Klebsiella pneumoniae	*Acinetobacter calcoaceticus*	*Hemophilus influenzae*
Branhamella catarrhalis	*E. coli*	*Neisseria meningitidis*
Candida albicans	*Chlamydia trachomatis*	

Інтерферуючі речовини

До негативних і позитивних зразків аденовірусу були додані наступні потенційно інтерферуючі речовини.

Аскорбінова кислота:	20 мг/дл (mg/dl)
Щавлева кислота:	60 мг/дл (mg/dl)
Білірубін:	100 мг/дл (mg/dl)
Сечова кислота:	60 мг/дл (mg/dl)
Аспірин:	20 мг/дл (mg/dl)
Сечовина:	2000 мг/дл (mg/dl)
Глюкоза:	2000 мг/дл (mg/dl)
Кофеїн:	40 мг/дл (mg/dl)
Альбумін:	2000 мг/дл (mg/dl)

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. WILHELMI I, ROMAN E, SANCHEZ-FAUQUIER A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Hung, T et al (1984) Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. Lancet, May 26;1(8387): 1139-1142.
5. Cukor, G; Perron, DM; Hudson, R and Blacklow, NR (1984) Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Microl. 19: 888-892.
6. Wood, D. J. and A. S. Bailey. Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens by Immune Electron Microscopy. Journal of Medical Virology, 1987; 21: 191-199.
7. Nishio, Osamu, M. Ooseto, K. Takagi, Y. Yamasita, Y. Ishihara, and S. Isomura. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Employing Monoclonal Antibodies for Direct Identification of Enteric Adenoviruses (Ad40, 41) in Feces. Microbiol. Immunol. 1990; 34(10): 871-877.
8. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens. Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
9. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis. Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

Умовні позначення

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

ВИРОБНИК:

ТОВ «ЛАБЮЕЙ»

Україна, 76018

м. Івано-Франківськ, вул. Петлюри, 25

Моб.: +38 (067) 000-20-22

E-mail: info@labua.com.ua