

Norovirus/Rotavirus/Adenovirus Combo

Rapid Test Cassette (kał)

Instrukcja użytkowania

REF INRA-635

Szybki, jednoetapowy test do jakościowego wykrywania norowirusa, rotawirusa i adenowirusa w ludzkim kale.

Tylko do profesjonalnych zastosowań diagnostycznych in vitro.

PRZEZNACZENIE

Norovirus/Rotavirus/Adenovirus Combo Rapid Test Cassette (kał) jest szybkim immunochromatograficznym testem do jakościowego wykrywania norowirusów, rotawirusów i adenowirusów w próbkach ludzkiego kału, aby pomóc w diagnozowaniu infekcji norowirusami, rotawirusami lub adenowirusami.

STRZESZCZENIE

Norovirus Rapid Test Cassette (Kał) to szybki chromatograficzny test do jakościowego wykrywania norowirusa w próbce ludzkiego kału. Test wykorzystuje specyficzne przeciwciała do selektywnego wykrywania norowirusa z ludzkich próbek kału.

Norowirusy (NoV) są genetycznie zróżnicowaną grupą jednoniciowego RNA, niezaawansowanych wirusów należących do rodziny Calciviridae. Przez dziesięciolecia nazywano je "wirusami o małych, okrągłych strukturach" (SRSV) lub "wirusami podobnymi do Norwalk" do niedawna, gdy ich taksonomię badano przy użyciu nowoczesnych technik molekularnych. Początkowo rozpoznano cztery antygenowe typy SRSV, ale ostatnio zidentyfikowano trzy grupy genowe z rodzajem Norowirusa. Genogrupa 1 i Genogrupa 2 są związane z infekcjami ludzkimi, podczas gdy Genogrupa 3 jest związana z zakażeniem bydła i świń.

Norowirusy są główną przyczyną ostrego zapalenia żołądka i jelit na całym świecie, często powodując nagłe wybuchy epidemii w instytucjach. Są wysoce zaraźliwe, a inokulum zawierające zaledwie dziesięć cząstek może wywołać infekcję. Zakażenie odbywa się poprzez spożywanie skażonej żywności i wody oraz rozprzestrzenianie się z człowieka na człowieka. Przekazywanie odbywa się głównie drogą fekalno-oralną, ale może być przenoszone drogą powietrzną poprzez aerolizację z wymiocin, które zazwyczaj zawierają obfite zakaźne cząsteczki wirusa. Epidemie mogą obejmować kilka dróg transmisji. Choroba jest nagła, zwykle łagodna, chociaż spowodowała zgon wśród słabych osób w podeszłym wieku, a samoograniczenie następuje po okresie inkubacji trwającym 24-48 godzin, chociaż przypadki mogą wystąpić w ciągu 12 godzin od ekspozycji. Zdolność Norowirusów do wywoływania epidemii w instytucjach stała się głównym problemem zdrowia publicznego. Ogniska zakażenia Norowirusami mogą być związane z restauracjami i instytucjami tak zróżnicowanymi, jak domy opieki, szpitale i elitarne obozy sportowe. Infekcje u niemowląt, osób starszych lub ułomnych mogą być śmiertelne, jeśli nie będą leczone. Objawy choroby Norowirusa obejmują zwykle nudności, wymioty, biegunkę i niektóre skurcze żołądka. Czasami ludzie dodatkowo mają niską gorączkę, dreszcze, ból głowy, bóle mięśni i ogólne poczucie zmęczenia. Choroba często zaczyna się nagle, a zarażona osoba może czuć się bardzo chora. U większości osób choroba ustępuje samoistnie z objawami trwającymi około 1 lub 2 dni. Generalnie dzieci doświadczają więcej wymiotów niż dorośli.

Rotavirus/Adenovirus Combo Rapid Test Cassette (kał)

Ostra biegunka u małych dzieci jest główną przyczyną zgonów w krajach rozwijających się.¹ Jest to najczęstsza przyczyna ostrego zapalenia żołądka i jelit, głównie u małych dzieci. Jego odkrycie w 1973 roku i jego związek z infekcyjnym zapaleniem żołądka i jelit jest bardzo ważnym postępowaniem w badaniu zapalenia żołądka i jelit nie spowodowane ostrym zakażeniem bakteryjnym. Rotawirus jest przenoszony drogą doustno-fekalną z okresem inkubacji 1-3 dni. Mimo, że próbki pobierane są w granicach choroby, rotawirus może nadal występować, gdy biegunka trwa. Rotawirusowe zapalenie żołądka i jelit może infekować pacjentów w podeszłym wieku i chorych z obniżoną odpornością.³ W klimacie umiarkowanym infekcje rotawirusem występują głównie w miesiącach zimowych. Zgłaszano doniesienia o endemicie i epidemiach dotyczących około 1000 osób.⁴ Wirusy wskazywały na rotawirusy wytwarzanie charakterystycznego efektu cytopatycznego (CPE). Ponieważ rotawirus jest niezwykle trudny w hodowli, nietypowe jest użycie wirusa w diagnozowaniu infekcji. Zamiast tego opracowano różne techniki wykrywania rotawirusa w kale. Badania wykazały, że adenowirusy jelitowe, głównie Ad40 i Ad41, są przyczyną biegunki u dzieci, ustępując jedynie rotawirusom.^{6,7,8,9} Te wirusowe patogeny zostały wyizolowane na całym świecie i mogą powodować biegunkę u dzieci przez cały rok. Infekcje są najczęściej obserwowane u dzieci w wieku poniżej dwóch lat, ale stwierdzono je u pacjentów w każdym wieku. Dalsze badania wskazują, że adenowirusy są związane z 4 - 15% wszystkich hospitalizowanych przypadków wirusowego zapalenia żołądka i jelit.^{5,6,7,8,9} Szybka i dokładna diagnoza zapalenia żołądka i jelit wywołana adenowirusem jest pomocna w ustaleniu etiologii zapalenia żołądka i jelit i związanego z tym postępowaniem z pacjentem. Inne techniki diagnostyczne, takie jak mikroskopia elektronowa (EM) i hybrydyzacja kwasów nukleinowych są kosztowne i pracochłonne. Dzięki samoograniczającemu się zakażeniu adenowirusem, takie drogie i pracochłonne testy mogą nie być konieczne.

Rotavirus and Adenovirus Combo Rapid Test Cassette (Kał) to szybki test immunochromatograficzny do jakościowego wykrywania rotawirusa i adenowirusa w próbce ludzkiego kału, zapewniająca wyniki w ciągu 15 minut. Test wykorzystuje specyficzne przeciwciała do selektywnego wykrywania rotawirusa i adenowirusa z ludzkich próbek kału.

ZASADA

Norovirus Rapid Test Cassette (Kał) jest jakościowym, immunochromatograficznym testem do wykrywania norowirusa w próbkach ludzkiego kału.

Test wykorzystuje monoklonalne przeciwciała skierowane przeciwko Genogrupie 1 i genogrupie 2 powleczone na membranie testowej. Podczas badania próbka kału reaguje z przeciwciałami skoniugowanymi. Mieszanina migruje w górę na membranie chromatograficznej przez działanie kapilarne, poprzez reakcję z przeciwciałami Genogrupy 1 i 2 na membranie tworzy barwną linię na poziomie odpowiednio T1 i T2. Obecność zabarwionego prążka w regionie T1 wskazuje pozytywny wynik dla grupy 1 i w regionie T2 odpowiednio dla grupy genowej 2, podczas gdy jego brak wskazuje na wynik ujemny. Kontrola proceduralna, kolorowy prążek zawsze pojawi się w strefie reakcji kontrolnej (C), wskazując, że dodano odpowiednią objętość próbki i wystąpiła migracja na membranie.

Rotavirus and Adenovirus Combo Rapid Test Cassette (Kał) to jakościowy test immunochromatograficzny do wykrywania rotawirusa i adenowirusa w próbce ludzkiego kału.

W teście membrana jest wstępnie pokryta przeciwciałami anti-rotawirusem w obszarze testowym linii T1 testu i przeciwciałami anti-adenowirusa w regionie T2. Podczas badania, próbka reaguje z przeciwciałami przeciw rotawirusom i przeciwciałami przeciw adenowirusom. Mieszanina migruje po membranie chromatograficznej przez działanie kapilarne, poprzez reakcję z przeciwciałami skierowanymi przeciwko rotawirusom i przeciwciałami przeciwko adenowirusom tworzy barwne prążki. Obecność zabarwionych prążków w regionie testowym wskazuje pozytywny, podczas gdy jego brak wskazuje na wynik ujemny. Kolorowa linia kontrolna powinna zawsze pojawić się w obszarze kontrolnym potwierdzając, że test został prawidłowo przeprowadzony.

ODCZYNNIKI

Test zawiera cząsteczki monoklonalne pokryte genogrupą 1 i genogrupą 2 oraz monoklonalne przeciwciała genogrupy 1 i genogrupy 2 opłaszczone na membranie. Test zawiera cząsteczki pokryte przeciwciałami anty-rotawirusowymi i przeciwciałami anty adenowirusowymi i przeciwciała anty-rotawirusowe oraz przeciwciała anty-adenowirusowe opłaszczone na membranie.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

do profesjonalnych zastosowań diagnostycznych in vitro. Nie używaj po upływie daty ważności.

- Kasetę testową powinna pozostać w zamkniętym woreczku do momentu użycia.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w miejscu, w którym są używane próbki lub zestawy.
- Nie używaj testu, jeśli woreczek jest uszkodzony.
- Wszystkie próbki należy traktować tak, jakby zawierały czynniki zakaźne. Podczas przeprowadzania testów należy przestrzegać ustalonych środków ostrożności zapobiegających zagrożeniom mikrobiologicznym i postępować zgodnie ze standardowymi procedurami prawidłowej utylizacji próbek.
- Podczas testowania próbek nosić odzież ochronną, taką jak fartuchy laboratoryjne, rękawiczki jednorazowe i ochronę oczu.
- Zastosowany test należy wyrzucić zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Wilgotność i temperatura mogą negatywnie wpływać na wyniki.

- Bufor ekstrakcyjny dla oznaczenia Norowirusów i Rota/Adeno są różne.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać w opakowaniach w zamkniętych torebkach w temperaturze pokojowej lub w lodówce (2-30 °C). Test jest stabilny do daty ważności wydrukowanej na zamkniętym woreczku. Test musi pozostać w zamkniętej torebce zawierającej środek osuszający do momentu użycia. **NIE ZAMRAŻAĆ**. Nie używać po upływie daty ważności.

POBIERANIE I PRZYGOTOWYWANIE PRÓBEK

1. Wykrywanie wirusa jest skuteczniejsze w przypadku zebrania próbek w momencie wystąpienia objawów. Wykryto, że maksymalne wydalanie rotawirusa i adenowirusa w kale pacjentów z zapaleniem żołądka i jelit występuje 3-5 dni po wystąpieniu objawów. Jeżeli próbki są zbierane długo po wystąpieniu objawów biegunki, ilość antygenu może nie być wystarczająca do uzyskania reakcji pozytywnej lub wykryte antygeny mogą nie być związane z biegunką.
2. Próbkę kału należy zbierać w czystym, suchym, wodoodpornym pojemniku, bez detergentów, środków konserwujących lub nośników transportowych.
3. Przed użyciem odczynnik należy koniecznie doprowadzić do temperatury pokojowej.

MATERIAŁY

Dostarczone materiały

- kasetki testowe • Instrukcja obsługi • Probówki do pobierania próbek z buforem do ekstrakcji • Zakraplacze

Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- Pojemniki do pobierania próbek • Timer • Wirówka i pipeta w celu dozowania 80 µL, jeśli jest to wymagane

INSTRUKCJE STOSOWANIA

Przed wykonaniem testu pozwól, aby kasetę testową, próbkę i bufor osiągnęły temperaturę pokojową (15-30 ° C).

1. Aby zebrać próbki kału:

Zbierz wystarczającą ilość kału (1-2 ml lub 1-2 g) w czystym, suchym pojemniku do pobierania próbek, aby uzyskać wystarczającą ilość cząstek wirusa. Najlepsze wyniki zostaną uzyskane, jeśli test zostanie wykonany w ciągu 6 godzin od pobrania. Zebraną próbkę można przechowywać przez 3 dni w temperaturze 2-8 ° C, jeśli nie zbadano jej w ciągu 6 godzin. W przypadku długotrwałego przechowywania próbki powinny być przechowywane w temperaturze poniżej -20 ° C.

2. Aby przetworzyć próbki kału:

Uwaga: Każdą próbkę kału należy wyekstrahować odpowiednio w 2 różnych probówkach ekstrakcji (bufor do ekstrakcji dla Norowirusa i bufor ekstrakcyjny dla Rota / Adeno), a wyekstrahowaną próbkę należy dodać do odpowiednich dołków próbkowych.

- Dla próbek stałych:

Odkręć nakrętkę probówki do pobierania próbek, a następnie losowo włóż aplikator do pobierania próbek do próbki kału w co najmniej 3 różnych miejscach, aby zebrać około 50 mg kału (co odpowiada ¼ ziarnka grochu). Nie zgarnij próbki kału.

- Dla próbek płynnych:

Trzymaj pionowo zakraplacz, aspiruj próbki kału, a następnie przenieś 2 krople płynnej próbki (około 50 µL) do probówki do pobierania próbek zawierającej bufor do ekstrakcji.

Dokręć nakrętkę na probówce do pobierania próbek, a następnie energicznie wstrząśnij probówką do pobierania próbek, aby wymieszać próbkę i bufor do ekstrakcji. Pozostaw probówkę na czas reakcji przez 3 minuty.

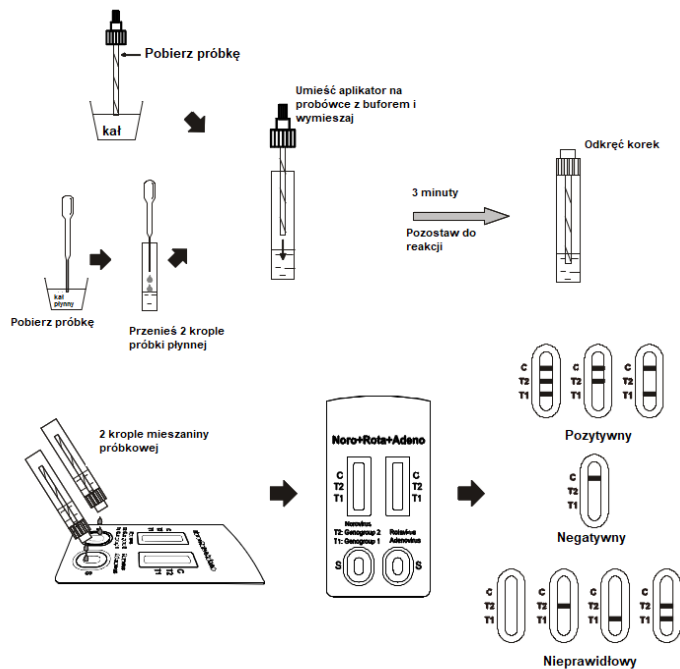
3. Wyjmij kasetę testową z torebki foliowej i użyj jej w ciągu jednej godziny. Najlepsze wyniki uzyska się, jeśli badanie zostanie wykonane natychmiast po otwarciu torebki foliowej.

4. Przytrzymaj probówkę do pobierania próbek pionowo i odkręć małą nasadkę probówki do pobierania próbek. Odwrócić probówkę do pobierania próbek i przenieś 2 pełne krople wyekstrahowanej próbki (około 80µL) do studzienek na próbki (S), a następnie uruchom timer. Unikać nanoszenia pęcherzyków powietrza w studzience (S). Zobacz ilustrację poniżej.

5. Odczytaj wyniki **po 15 minutach** od momentu pobrania próbki. Nie odczytuj wyników po 20 minutach.

• Tylko

Uwaga: Jeśli próbka nie migruje (obecność cząstek), odwróć wyekstrahowaną próbkę zawartą w fiolce buforu ekstrakcyjnego. Zbierz 80 µl supernatantu, dozuj do dołka (S). Uruchom timer i kontynuuj od kroku 5 w powyższej instrukcji obsługi.



INTERPRETACJA WYNIKÓW

(Proszę odnieść się do powyższej ilustracji)

Okno Norovirus:

Genogrupa 1/2 Pozytywny: * Pojawiają się wyraźne trzy kolorowe linie. Jedna kolorowa linia powinna znajdować się w obszarze linii kontrolnej (C), a widoczne kolorowe linie powinny znajdować się w regionie Genogrupy 1 (T1) i regionie Genogrupy 2 (T2).

Genogrupa 1 Pozytywny * Pojawiają się dwie wyraźne kolorowe linie. Jedna kolorowa linia powinna znajdować się w obszarze linii kontrolnej (C), a inna widoczna kolorowa linia powinna znajdować się w regionie Genogrupy 1 (T1).

Genogrupa 2 Pozytywny : * Pojawiają się dwie wyraźne kolorowe linie. Jedna kolorowa linia powinna znajdować się w obszarze linii kontrolnej (C), a inna widoczna kolorowa linia powinna znajdować się w regionie Genogrupy 2 (T2).

* UWAGA: Intensywność koloru w obszarze linii testowej (T) będzie się różnić w zależności od stężenia antygenu Norowirusa obecnego w próbce. Dlatego każdy odcień koloru w obszarze linii testowej (T) powinien być uważany za dodatni.

Okno Rota / Adeno:

Rotawirus Pozytywny: * Kolorowa linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a inna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii T2.

Adenowirus Pozytywny: * Kolorowa linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a inna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii T1.

Rotawirus i Adenowirus Pozytywny: * Kolorowa linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a dwie inne kolorowe linie pojawiają się odpowiednio w obszarze linii T1 i regionie linii T2.

* UWAGA: Intensywność koloru w obszarze linii testowej (T1 / T2) będzie się różnić w zależności od stężenia antygenów rotawirusa lub adenowirusa obecnych w próbce. Dlatego każdy odcień koloru w obszarze linii testowej (T1 / T2) powinien być uważany za dodatni.

NEGATYWNY: Jedna kolorowa linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C). W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się żadna linia.

NIEPRAWIDŁOWY: Linia kontrolna (C) nie pojawia się. Niewystarczająca objętość próbki lub niewłaściwe techniki proceduralne są najbardziej prawdopodobnymi przyczynami braku prążku kontrolnego. Przejrzyj procedurę i powtórz test za pomocą nowej kasety testowej. Jeśli problem będzie się powtarzał, natychmiast zaprzestań używania zestawu testowego i skontaktuj się z lokalnym dystrybutorem.

KONTROLA JAKOŚCI

W teście uwzględniono wewnętrzną kontrolę proceduralną. Kolorowa linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) jest wewnętrzną pozytywną kontrolą proceduralną. Potwierdza wystarczającą objętość próbki, odpowiednią migrację na membranie i właściwą technikę wykonania.

Standardy kontroli nie są dostarczane z tym zestawem; jednak zaleca się, aby kontrole pozytywne i negatywne były testowane jako dobra praktyka laboratoryjna, aby potwierdzić procedurę testu i zweryfikować prawidłowe wyniki testu.

OGRANICZENIA

1. Szybka kasetka testowa Norovirus / Rotavirus / Adenovirus Combo (Kał) służy wyłącznie do diagnostyki in vitro. Test powinien być stosowany do wykrywania ludzkich norowirusów, rotawirusów i adenowirusów wyłącznie w próbkach kału. Ani wartość ilościowa, ani tempo wzrostu ludzkiego norowirusa, rotawirusa i stężenia adenowirusa nie mogą być określone przez ten jakościowy test.

2. Szybki test kasetkowy do identyfikacji Norovirus / Rotavirus / Adenovirus (kał) będzie jedynie wskazywać na obecność norowirusa, rotawirusa i adenowirusa w próbce i nie powinien być stosowany jako jedyne kryterium dla określenia norowirusa, rotawirusa i adenowirusa jako jedynego czynnika etiologicznego wywołującego biegunkę.

3. Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, wszystkie wyniki muszą być interpretowane razem z innymi informacjami klinicznymi dostępnymi dla lekarza.

4. Jeśli wynik testu jest negatywny i utrzymują się objawy kliniczne, zaleca się dodatkowe badania z zastosowaniem innych metod klinicznych. Negatywny wynik w żadnym momencie nie wyklucza możliwości zakażenia norowirusa, rotawirusa lub adenowirusa niskim stężeniem cząstek wirusa.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Kaseta testowa Norowirus / Rotawirus / Adenowirus Combo Rapid (kał) została porównana z innym testem immunochromatograficznym oraz metodą aglutynacji lateksu, wykazując ogólną dokładność ponad 96,0%.

CHARAKTERYSTYKA WYDAJNOŚCI

Wrażliwość kliniczna, swoistość i dokładność

1. Norowirus

Wydajność **Norovirus Rapid Test Cassette** oceniono na 136 próbkach klinicznych. Wyniki pokazują, że względna czułość testu wynosi 99,9%, a względna swoistość wynosi 98,1%.

Norovirus Rapid Test Cassette vs. Inny test

Metoda		Inny test		Wyniki łącznie
WYNIK		Pozytywny	Negatywny	
Norovirus Rapid Test Cassette	Pozytywny	33	2	35
	Negatywny	0	102	101
Wyniki łącznie		33	103	136

Względna czułość: 99,9% (95% CI: * 91,32% - 99,92%)

Względna specyficzność: 98,1% (95% CI: * 93,16% - 99,76%)

Względna dokładność: 98,5% (95% CI: * 94,79% - 99,82%) * Przedział ufności

2. Rotawirus

Wydajność **Rotavirus Rapid Test Cassette** oceniono na 501 próbkach klinicznych pobranych od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu z metodą aglutynacji lateksu.

Wyniki pokazują, że względna czułość testu wynosi 97,3%, a względna specyficzność wynosi 97,1%.

Metoda		Aglutynacja lateksowa		Wyniki łącznie
WYNIK		Pozytywny	Negatywny	
Rotavirus rapid test Cassette	Pozytywny	251	7	258
	Negatywny	7	236	243
Wyniki łącznie		258	243	501

Względna czułość: 97,3% (95% CI: * 94,5% - 98,9%)

Względna specyficzność: 97,1% (95% CI: * 94,2% - 98,8%)

Względna dokładność: 97,2% (95% CI: * 95,4% - 98,5%) * Przedział ufności

3. Adenowirus

Wydajność **Adenovirus Rapid Test Cassette** oceniono na 381 próbkach klinicznych pobranych od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu z metodą aglutynacji lateksu. Wyniki pokazują, że względna czułość testu wynosi 95,2%, a względna specyficzność wynosi 97,7%.

Metoda		Aglutynacja lateksowa		Wyniki łącznie
WYNIK		Pozytywny	Negatywny	
Adenovirus rapid test	Pozytywny	118	6	124
	Negatywny	6	251	257
Wyniki łącznie		124	257	381

Względna czułość: 95,2% (95% CI: * 89,8% - 98,2%)

Względna specyficzność: 97,7% (95% CI: * 95,0% - 99,1%)

Względna dokładność: 96,8% (95% CI: * 94,6% - 98,4%) * Przedział ufności

Precyzja

Wewnątrz serii

Dokładność w obrębie serii została określona za pomocą 10 powtórzeń trzech różnych próbek zawierających różne stężenia norowirusa, rotawirusa i antygeny adenowirusowego. Próbki zostały prawidłowo zidentyfikowane > 99% przypadków.

Pomiędzy seriami

Dokładność między seriami została określona przez 10 niezależnych testów na tych samych różnych próbkach zawierających różne stężenia antygeny norowirusowego, rotawirusa i adenowirusa. Trzy różne serie testu **Norovirus / Rotavirus / Adenovirus Combo Rapid** były testowane przez okres 3 dni przy użyciu próbek o ujemnej i dodatniej jakości. Próbki zostały prawidłowo zidentyfikowane > 99% przypadków.

Reakcje krzyżowe

Reaktywność krzyżową z następującymi organizmami badano przy 1,0 x 10⁹ organizmów / ml. Następujące organizmy uznano za negatywne, gdy testowano je za pomocą kasety testowej **Norovirus / Rotavirus / Adenovirus Combo Rapid (Kał)**.

Staphylococcus aureus	Proteus mirabilis	Neisseria gonorrhoea
Pseudomonas aeruginosa	Acinetobacter spp	Group B Streptococcus
Enterococcus faecalis	Salmonella choleraesuis	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	