



LIAISON® Rotavirus (REF 318940)
Реагент для определения ротавируса

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор LIAISON® Rotavirus – это набор для *in vitro* диагностики методом хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) для качественного определения антигенов ротавируса в кале человека. Прежде всего, набор LIAISON® Rotavirus используют для диагностики острого вирусного гастроэнтерита. Для корректной постановки диагноза результаты анализа должны быть интерпретированы с учетом других клинических и лабораторных данных. Исследование должно выполняться на анализаторах линейки LIAISON®.

2. ВВЕДЕНИЕ И ОПИСАНИЕ ТЕСТА

Во всем мире ротавирус является основным возбудителем гастроэнтеритов у детей. Ротавирусы – род вирусов семейства *Reoviridae*. Вирус окружен трехслойным капсидом с икосаэдрической симметрией, который защищает вирус во время его прохождения через желудок и пищеварительный тракт⁽¹⁾. Ротавирус чаще всего передается фекально-оральным путем. У людей, инфицированных ротавирусной инфекцией, кал может содержать до 10 триллионов вирусных частиц на грамм биологического материала⁽²⁾. Попав в организм, ротавирусные частицы инфицируют зрелые непролиферативные энтероциты, выстилающие верхнюю часть микроворсинок тонкой кишки, начинается процесс их репликации в цитоплазме. Разрушая энтероциты тонкого кишечника, возникает последующий ответ секреторных клеток крипт, гомеостаз нарушается с выделением большого количества жидкости и возникает потеря электролитов в просвете пищеварительного тракта^(3,4). Симптомы могут включать диарею (от небольшой до сильной), рвоту и лихорадку, которая может привести к дегидратации, шоку, электролитному дисбалансу и летальному исходу.

Набор LIAISON® Rotavirus определяет структурный белок VP6 ротавируса в кале. Белок VP6 - наиболее иммуногенный вирусный белок, который обнаруживается у всех серотипов вируса. Серотип А - наиболее часто встречаемый у человека (>90%). VP6 - высоко консервативный белок, располагающийся в центре капсида⁽⁵⁾. После того как вирус попадет в клетку, внешние капсидные белки VP4 и VP7 высвобождаются вирусом и покидают двухслойную частицу, которая окружена слоем белка VP6, интегративность которого необходима для транскрипции и вирусной репликации⁽⁶⁾.

3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод представляет собой 2-ступенчатый модифицированный «сэндвич» анализ для обнаружения белка VP6, который является группоспецифическим антигеном патогенных для человека ротавирусов. Для исследования используются моноклональные антитела для захвата, поликлональное антитело для детекции антигена VP6 ротавируса. Для исследования необходимо 100 мкл пробы, состоящей из разбавителя и экстракта кала, содержащего антиген ротавируса. Проба инкубируется с парамагнитными частицами с осажденными на них антителами к ротавирусным антигенам. Далее в реакцию добавляются изолюмино-конъюгированные антитела к антигенам ротавируса и проба снова инкубируется. После второй инкубации несвязанный материал удаляется путем промывки. Затем добавляются запускающие реагенты и индуцируется хемилюминесцентная реакция. Интенсивность люминесценции измеряется с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, которая пропорциональна концентрации антигенов ротавируса в калибраторах, контролях и пробах.

4. СОСТАВ НАБОРА

Реагентный картридж

Магнитные частицы (2,4 мл)	Магнитные частицы, покрытые моноклональными антителами к антигену ротавируса; фосфатный буфер; БСА; сурфактант, 0,1% Proclin ® 300 и 0,05% сульфат гентамицина.
Конъюгат (23,0 мл)	Поликлональные антитела к антигену ротавируса, конъюгированные в производном изолюминола; фосфатный буфер; БСА; сурфактант, 0,1% Proclin ® 300 и 0,05% сульфат гентамицина.
Количество определений	100

ProClin® является зарегистрированным товарным знаком Dow и компаний аффилиатов Dow. Все реагенты готовы к использованию. Порядок реагентов отражает расположение контейнеров в Интеграле реагентов.

Помимо интегрального картриджа в состав набора входят:

Калибратор 1 (3 x 1 мл), лиофилизированный	Инактивированный ротавирус, БСА, сурфактант, 0,1% Proclin ® 300, 0,05% сульфат гентамицина. Разбавлять в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды
Калибратор 2 (3 x 1 мл), лиофилизированный	Инактивированный ротавирус, БСА, сурфактант, 0,1% Proclin ® 300, 0,05% сульфат гентамицина. Разбавлять в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды
Разбавитель (1 x 105 мл)	БСА, сурфактант, 0,1% Proclin ® 300, 0,05% сульфат гентамицина. После вскрытия разбавитель стабилен в течение 10 недель при температуре 2-8°C
Дозаторы (2 x 50)	Дозаторы для жидкого кала (X0031)
Петля (4 x 25)	Микробиологическая петля
Устройство для экстракции кала* (2 x50)	Полипропиленовая пробирка для перемешивания, коническая пробирка и голубая крышка, элемент с голубым фильтром из плотного полиэтилена.

* Устройство не содержит БФА, латекс или ДЭГФ.

Стандартизация: референсом для установки концентрации калибраторов служат внутренние стандарты компании

LIAISON® XL анализатор	LIAISON® анализатор
Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100)	Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100)
Мешки для отработанных реакционных модулей (каталожный номер X0025)	Мешки для отработанных реакционных модулей (каталожный номер 450003)
Кюветы (каталожный номер X0016)	Реакционные Модули (каталожный номер 319130)
Набор запускающих реагентов XL (каталожный номер 319200)	Набор запускающих реагентов (каталожный номер 319102) или Набор запускающих реагентов XL (каталожный номер 319200)
Одноразовые наконечники (REF X0015)	Набор растворов для обслуживания (каталожный номер 310990)
	Реактив для ежедневной проверки анализатора 12 (каталожный номер 319150)

Дополнительные материалы, рекомендованные для работы:

LIAISON® Контроль для ротавирусов (каталожный номер 318941)

Необязательные устройства, которые можно приобрести в компании DiaSorin:

Дозатор для жидкого кала (X0031)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ


ТОЛЬКО ДЛЯ *IN VITRO* ДИАГНОСТИКИ - Не для внутреннего или внешнего использования в организме людей и животных.

Общие правила безопасности:

- Все образцы, реагенты и биологические материалы, используемые при постановке настоящего исследования, следует рассматривать как потенциально опасные, способные передавать инфекционные агенты. Избегайте попадания на кожу, глаза или слизистую оболочку. Следуйте санитарно-эпидемиологическим правилам и нормам при выполнении исследования.
- Запрещается принимать пищу и напитки, курить или пользоваться косметикой в помещении лаборатории.
- Запрещается пипетировать ртом.
- Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным биологическим материалом. Не забывайте одевать халат, защитные очки и перчатки.
- Тщательно мойте руки после работы.
- Избегайте разбрызгивания или образования аэрозолей при работе с реагентами. В случае разбрызгивания реагентов, дезактивируйте их 10% раствором отбеливателя (содержащий 0,5% раствор гипохлорита натрия) и утилизируйте как потенциально опасные.
- Необходимо утилизировать отходы в соответствии с местными требованиями санитарно-эпидемиологического и экологического контролей страны.
- Не используйте наборы или реагенты с истекшим сроком годности.

Информация об опасности и безопасности химических веществ: Реагенты в данном наборе классифицированы в соответствии со стандартом безопасности США OSHA; отдельным законам США о праве на информацию; Регламенту Канадского центра по гигиене труда и технике безопасности; и применимые директивы Европейского Союза (см. Паспорт безопасности материала для дополнительной информации).

GHS/CLP:

	ProClin [®]
Кат No.:	55965-84-9
Реагенты:	[SOR [®]] [CONJ] [CAL 1] [CAL 2] [DIL SPE]
Классификация:	Кожная сенсibilизация, категории 1
Сигнальное слово:	Внимание
Пиктограмма:	 GHS07 – Восклицательный знак
Заявление об опасности:	H317 – Может вызывать аллергическую реакцию
Предупредительные заявления:	P261 – Избегать вдыхания тумана или брызг. P272 – Загрязненная рабочая одежда не должна использоваться за пределами рабочего места. P280 – Носите защитные перчатки и одежду, а также защитные очки.

6. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

6.1 Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

- Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.
- При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.
- После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

6.2 Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

- Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

6.3 Установка интеграла в область загрузки реактивов**Анализатор LIAISON®**

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее 8 недель при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах. Периодичность проведения калибровки описана в пункте 11.

8. ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Кал необходимо собирать в чистый герметичный контейнер без консервантов. Пробы должны храниться при температуре 2-8°C и исследоваться как можно быстрее, при данной температуре они стабильны в течение 48 часов. При невозможности исследовать пробы в течение 48 часов (при температуре 2-8°C), допускается их замораживание при температуре -20°C. Перед использованием замороженные пробы необходимо нагреть до комнатной температуры и перемешать. Не допускается повторное замораживание проб.

9. ХРАНЕНИЕ ЭКСТРАКТА

Экстракт кала или культуральный экстракт стабилен в течение 8 часов при комнатной температуре (18 - 25°C), 72 часа при температуре 2-8°C, 12 недель при -20 °C до тестирования. Замороженные экстракты из кала стабильны после 2 циклов замораживания/оттаивания.

При долгом хранении экстракта или его транспортировке необходимо удалить из него видимый дебрис, который осел на дне конической пробирки. В этом случае перенесите экстракт в другую пробирку, не смешивая его с дебрисом.

10. КАЛИБРОВКА УРОВЕНЬ 1 И 2

Калибраторы для набора LIAISON® Rotavirus поставляются в лиофилизированном виде. Их необходимо ресуспендировать в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды. После разведения оставьте флаконы при комнатной температуре в течение 5 минут, а затем аккуратно перемешайте в течение как минимум 10 минут. Перенесите 600 мкл (три контроля) в стеклянную или пластиковую пробирку. Наклейте на пробирку соответствующий штрих-код, который входит в состав набора, и поместите в анализатор. Проведите процедуру калибровки согласно инструкции. Калибраторы стабильны в течение часа при комнатной температуре (18-25°C).

Калибратор и Интегральный Реагент специфичны по номеру лота. Не используйте калибраторы и реагенты с разными лотами в одном исследовании.

LIAISON® анализатор:

Перенесите пробирку в стойку «А» анализатора LIAISON® со штрих-кодом, повернутым наружу, и вставьте штатив в область образца анализатора LIAISON®.

LIAISON®XL анализатор:

Перенесите пробирку в стойку анализатора LIAISON® XL “А” со штрих-кодом, показывающим наружу, и сдвиньте стойку в область образца анализатора LIAISON® XL

11. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла.

Калибровка должна быть проведена в трех повторах в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 21 дней с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

12. ПРОБОПОДГОТОВКА

Использование устройства для экстракции кала:

1. Добавьте 1,0 мл разбавителя в пробирку для смешивания устройства для экстракции кала.
2. Подготовка биологического материала: перемешайте кал насколько это возможно для того, чтобы перенести пробу
 - а. *Жидкий или полужидкий стул:* Используя дозатор для жидкого кала, измерьте 20 мкл кала до первой метки дозатора, как показано на рисунке ниже, и перенесите этот объем в пробирку для смешивания с разбавителем. Перемешайте содержимое при помощи дозатора несколько раз, чтобы удалить оставшиеся частицы пробы с дозатора.



б. *Твердый стул*: Используя микробиологическую петлю, добавьте пробу кала диаметром с головку петли, как показано на рисунке ниже, в пробирку для смешивания с разбавителем. Хорошо размешайте содержимое пробирки, убедитесь, что на петле не осталось частичек биологического материала.

Вид сверху без кала



Вид сбоку с калом



3. Плотно закрутите конический голубой фильтр на пробирке для смешивания.
4. Хорошо перемешайте содержимое пробирки примерно 20 секунд
5. Отцентрифугируйте содержимое пробирки на скорости $\geq 2000 \times g^*$ в течение 5 минут. **Коническая пробирка при этом должна быть снизу устройства.**
6. Открутите и утилизируйте пробирку для перемешивания и голубой фильтр. Проверьте жидкий супернатант в конической пробирке, он может быть мутным, но не должен содержать дебриса или пузырей.
7. Поместите коническую пробирку в штатив “S” (для анализатора LIAISON®) или в штатив “H” (для анализатора LIAISON®XL) и установите в анализатор для тестирования.
8. Обработайте рабочую зону 10% раствором отбеливателя (содержащий 0,5% раствор гипохлорита).

В конце инструкции Вы найдете иллюстрированную схему использования приспособления для экстракции кала.

13. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

Анализатор LIAISON®. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации со штрих-кода не считывается, то картридж является непригодным для использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Анализатор LIAISON® XL. Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Операции постановки анализа имеют следующую последовательность:

1. Раскапывание магнитных частиц в кюветы реакционного модуля
2. Раскапывание калибраторов, контролей или образцов в кюветы реакционного модуля
3. Инкубация
4. Раскапывание конъюгата
5. Инкубация
6. Промывка Системной/Промывочной жидкостью
7. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

На результаты иммуноанализа могут влиять колебания температуры. Пользователи должны знать об изменениях в своей лабораторной среде; может потребоваться более частое использование контролей и последующая калибровка.

14. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества должен выполняться один раз в день использования или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций. Пользователю рекомендуется обратиться к CLSI C24-A3 и 42 CFR 493.1256 (c) для получения инструкций по надлежащей практике контроля качества.

Контроль LIAISON Rotavirus Control Set (Кат. № 318941) предназначен для мониторинга правильности работы реагента. Контроль необходимо проводить в 1 повторности для проверки правильности работы реагента. Тестирование проведено успешно, если значения контроля входят в ожидаемый диапазон. Если результаты измерения контрольных сывороток выходят за допустимые пределы, необходимо повторно провести калибровку методики, а измерение контрольных материалов и образцов должно быть проведено повторно. Результаты тестирований образцов верны только при условии, что значения протестированных контролей входят в ожидаемый диапазон.

Перед использованием других контрольных материалов необходимо оценить возможность их использования с данным набором реактивов, после чего необходимо установить подходящие пределы допустимых значений.

Пределы допустимых значений каждого контроля обозначены в сертификате исследования и указывают границы, установленные компанией DiaSorin для контрольных значений, которые могут быть получены при выполнении исследования.

* $g = (1118 \times 10^{-8})(\text{радиус в см}) (\text{число оборотов в минуту})^2$

15. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает уровень антигена ротавируса в заданной величине и оценивает результат в качестве индекса. Подробная информация в инструкции пользователя.

Пороговое значение для набора LIAISON® Rotavirus определялось на основе результатов исследуемых проб популяции пациентов, положительными и отрицательными по ротавирусу.

Пробы исследовались в параллели с помощью наборов сторонних производителей и набора LIAISON® Rotavirus. Было выполнено кумулятивное распределение частот (ROC) исследования для определения оптимума порогового значения. Было определено, что заданная величина составляет 1,0.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Если в результате отображается сообщение «invalid PLU» и предупреждающий (!) флаг, то результат не может считаться достоверным и необходимо повторить постановку исследования. Если при повторной постановке анализатор выдаст такое же сообщение, обратитесь в службу поддержки.

Результаты исследований должны быть интерпретированы следующим образом:

Индекс	Результат	Интерпретация
≤ 0,90	Отрицательный	Указывает на низкое содержание антигена ротавируса (или их концентрации ниже предела обнаружения исследования).
> 0,90 и < 1,10	Неопределенный	Пробы с неопределённым результатом должны быть экстрагированы и исследованы повторно. Считаются положительными пробы, результат которых при повторном исследовании ≥1,10. Считаются отрицательными пробы, результат которых при повторном исследовании ≤0,90. Если результат пробы повторно определяется как неопределенный, следует повторить забор биологического материала с последующим его исследованием.
≥1,10	Положительный	Указывает на наличие антигена ротавируса

16. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Результаты анализа должны использоваться в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными, чтобы помочь клиницисту принимать индивидуальные решения по ведению пациентов.
2. Наличие навыков и прямое следование инструкции пользователя необходимы для получения точных результатов.
3. Интегралы не могут переноситься между анализаторами LIAISON® и LIAISON®XL. После распознавания реагентного картриджа одним типом анализаторов, он должен использоваться там до конца.
4. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, последующие наблюдения пациентов могут не быть заключены между типами анализаторов. Это должно быть выполнено на одном конкретном типе анализатора (LIAISON® или LIAISON® XL).

17. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Ротавирус наиболее часто вызывает гастроэнтериты у детей во всем мире. Он является причиной примерно полумиллиона смертей ежегодно среди детей младше 5 лет, при чем >80% приходится на развивающиеся страны⁽⁷⁾. Набор LIAISON® Rotavirus определяет наличие антигена ротавируса VP6. Количество положительных результатов может варьировать в зависимости от возраста, географического местоположения, метода забора биологического материала, его транспортировки и используемого теста для диагностики; таким образом, каждая лаборатория должна самостоятельно определить ожидаемые значения для каждой популяции.

18. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

18.1 Сравнение

Было исследовано 239 проб с помощью набора LIAISON® Rotavirus и другого коммерческого ИФА набора. Результаты приведены в таблице ниже:

LIAISON® Rotavirus	ИФА метод		
	Положительный	Отрицательный	Всего
Положительный	135	0	135
Сомнительный	0	1	1
Отрицательный	1	102	103
Всего	136	103	239

Совпадение по положительным результатам = (135/136) 99,3% 95%CI (96,0%-99,8%)

Совпадение по отрицательным результатам = (102/103) 99,0% 95%CI (94,8%-99,8%)

Общее совпадение = (237/239) 99,2% 95% CI (97,0%-99,7%)

18.2 Точность

Анализатор LIAISON: В течение 12 дней в дубле были исследованы 2 набора контролей и 6 разбавленных проб с использованием наборов LIAISON® Rotavirus одного лота на анализаторе LIAISON®, чтобы определить сходимость и воспроизводимость набора. Пробы были разделены по следующим уровням: 2 отрицательные, 1 с пограничными значениями, 3 положительные и 1 проба. Исследование проводилось согласно требованиям EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов.⁶

Сходимость

Проба	Отр контроль	Полож контроль	1	2	3	4	5	6
Количество определений	48	48	48	48	48	48	48	48
Значения (Индекс)	0,02	4,95	0,25	0,52	0,97	1,29	7,59	29,4
Стандартное отклонение (Индекс)	0,00	0,10	0,01	0,01	0,02	0,02	0,15	0,39
Коэффициент вариации (%CV)	7,1	2,0	2,0	2,2	1,7	1,8	2,0	1,3

Воспроизводимость

Проба	Отр контроль	Полож контроль	1	2	3	4	5	6
Количество определений	48	48	48	48	48	48	48	48
Значения (Индекс)	0,02	4,95	0,25	0,52	0,97	1,29	7,59	29,4
Стандартное отклонение (Индекс)	0,00	0,23	0,01	0,02	0,04	0,05	0,43	1,91
Коэффициент вариации (%CV)	7,1	4,7	3,5	3,1	4,0	3,6	5,7	6,5

Анализатор LIAISON XL: 2 набора контрольных образцов и 6 образцов на основе буфера ротавирусного антигена были подготовлены и испытаны в DiaSorin Inc. два раза в день в двух экземплярах, в течение 12 рабочих дней на 1 анализаторе LIAISON® XL, при этом 2 техника использовали 1 партию реагентов для определения повторяемости и воспроизводимости LIAISON® Ротавирус.

Образцы готовили до следующих уровней: 2 отрицательных, 1 отрезанный образец и 3 положительных. Тестирование проводилось в соответствии с CLSI EP5-A2

Сходимость

Проба	Отр контроль	Полож контроль	1	2	3	4	5	6
Количество определений	48	48	48	48	48	48	48	48
Значения (Индекс)	0,05	4,26	0,29	0,58	0,89	1,38	7,92	29,22
Стандартное отклонение (Индекс)	0,00	0,14	0,01	0,01	0,03	0,03	0,30	0,74
Коэффициент вариации (%CV)	7,0	3,4	4,2	2,6	3,6	2,3	3,7	2,5

Воспроизводимость

Проба	Отр контроль	Полож контроль	1	2	3	4	5	6
Количество определений	48	48	48	48	48	48	48	48
Значения (Индекс)	0,05	4,26	0,29	0,58	0,89	1,38	7,92	29,22
Стандартное отклонение (Индекс)	0,01	0,20	0,02	0,03	0,08	0,08	0,36	1,09
Коэффициент вариации (%CV)	12,8	4,6	6,3	5,6	8,5	5,6	4,6	3,7

18.3 Интерференция

Проведенные исследования с веществами, которые могут вызывать интерференцию, показали ее отсутствие в пробах со слабо-положительными и отрицательными уровнями антигена ротавируса в указанных ниже концентрациях.

Вещество	Концентрация
Гемоглобин	3,2 мг/мл
Кровь*	5%
Белые кровяные тельца	5%
Красные кровяные тельца	25%
Сульфат бария	5,0 мг/мл
Стеариновая кислота	2,65 мг/мл
Пальмитиновая кислота	1,3 мг/мл
Муцин	3,33 мг/мл
Метронидазол	12,5 мг/мл
Гидрохлорид ванкомицина	2,5 мг/мл
Имодиум	6,67 x 10 ⁻³ мг/мл

Висмут субсалицилат	0,87 мг/мл
Пепто бисмол	0,87 мг/мл
Прилосек	0,5 мг/мл
Gas-X	0,625 мг/мл
Тамс	0,5 мг/мл
Тагамет	0,5 мг/мл
Маалокс	4,2 мг/мл
Миралакс	79,05 мг/мл
Полиэтилен гликоль 4600	79,05 мг/мл

*Цельная кровь человека без антител к ротавирусу.

18.4 Перекрестная реактивность

Была исследована перекрестная реактивность набора LIAISON® Rotavirus с нижеуказанными микроорганизмами. Данные микроорганизмы были добавлены в образцы со слабоположительными или отрицательными показателями ротавируса и исследованы с помощью набора LIAISON® Rotavirus. В присутствии этих микроорганизмов не наблюдалось ложноположительных или ложноотрицательных результатов.

Микроорганизмы (в алфавитном порядке)	Конечные концентрации		Микроорганизмы (в алфавитном порядке)	Конечные концентрации
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Proteus mirabilis</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Proteus vulgaris</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Campylobacter coli</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Providencia stuartii</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Campylobacter fetus</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Campylobacter jejuni</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Candida albicans</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Pseudomonas putida</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Citrobacter freundii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Salmonella group A</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium difficile</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Salmonella group B</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium perfringens Type A</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Salmonella group C</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium perfringens Type B</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Salmonella group D</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium perfringens Type D</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Salmonella group E</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium perfringens Type E</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Serratia liquefaciens</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium sordellii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Serratia marcescens</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Clostridium sporogenes</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Shigella boydii</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Shigella flexneri</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Shigella sonnei</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Staphylococcus aureus</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Enterococcus faecium</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Staphylococcus aureus (Cowan)</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Escherichia coli</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Escherichia fergusonii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Streptococcus agalactiae</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Escherichia hermannii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Helicobacter pylori</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Streptococcus uberis</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Klebsiella pneumonia</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Lactobacillus lactis</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,2 x 10 ⁹ КОЕ/мл
<i>Lactococcus lactis</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Adenovirus Type 2	1 x 10 ^{6,96} ДИКТ50/мл
<i>Listeria innocua</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Adenovirus Type 40	1 x 10 ^{7,29} ДИКТ50/мл
<i>Listeria monocytogenes</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Adenovirus Type 41	1 x 10 ^{7,53} ДИКТ50/мл
<i>Morganella morganii</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Coxsackievirus A-9	1 x 10 ^{6,01} ДИКТ50/мл
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Coxsackievirus B-4	1 x 10 ^{7,68} ДИКТ50/мл
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл		Echovirus 30	1 x 10 ^{7,29} ДИКТ50/мл
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	1,2 x 10 ⁸ КОЕ/мл			

18.5 Реакционная способность серотипов

Набор LIAISON® Rotavirus определяет серотипы 1, 2, 3, 4, 8, 9 и 12 группы А ротавируса.

18.6 Контаминация

Были проведены исследования для определения вероятности контаминации при выполнении данного исследования. Полученные результаты показали, что изменений в значениях не наблюдалось, результаты демонстрировали отсутствие контаминации в пробах при использовании набора LIAISON® Rotavirus, выполненного на анализаторе LIAISON®.

Контаминация на анализаторе LIAISON®XL невозможна благодаря использованию одноразовых наконечников.

1. LIAISON® Rotavirus пробоподготовка с использованием устройства для экстракции кала



Добавьте 1.0 мл разбавителя:
в пробирку для смешивания



Добавьте пробу:

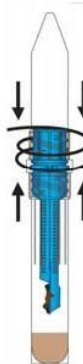
Жидкий или полужидкий кал:
Используя специальный дозатор для жидкого кала, добавьте 20 µL до первой метки дозатора, см. рис.



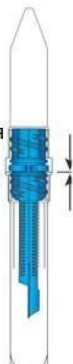
Твердый кал: используя микробиологическую петлю, добавьте кал диаметром с головку петли, см. рисунок (вид сбоку с биологическим материалом).

Переместите кал в пробирку для смешивания

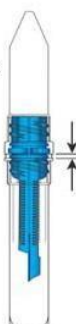
2. Сборка устройства



ПЛОТНО закрутите элемент с голубым фильтром на пробирку для смешивания. Наружные кромки каждого элемента должны плотно прилегать друг к другу.
ПРИМЕЧАНИЕ: Если устройство собрано верно, не должно быть прорезей.



Устройство собрано правильно:
Нет прорезей



Устройство собрано неправильно:
Видна прорезь между элементами

3. Перемешивание



Перемешайте содержимое на вортексте в течение 20 секунд.

4. Центрифугирование



Отцентрифугируйте содержимое в течение 5 минут при скорости $\geq 2000 \times g$. Коническая пробирка при этом должна быть снизу.

5. Проведение исследования



Открутите коническую пробирку от устройства. Утилизируйте пробирку для перемешивания и голубой фильтр.

Проверьте супернатант. Он может быть мутным, но в нем не должно быть дебриса или пузырей.

Поместите коническую пробирку в анализатор для исследования или прочтите раздел 9 инструкции, где Вы найдете рекомендации по хранению.

Очистите поверхность раствором 5% гипохлорита после работы.



Биологическая опасность
Одноразовое устройство