

Szybki test do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w próbkach kału ludzkiego.
Test przeznaczony tylko do użytku profesjonalnego do diagnostyki in vitro.

PRZEZNACZENIE TESTU

Test przeznaczony jest do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w próbkach kału ludzkiego. Jest to szybki immunochromatograficzny test.

WPROWADZENIE

Do infekcji rotawirusem może dojść poprzez kontakt z osobami chorymi, przedmiotami, powierzchniami zanieczyszczonymi cząsteczkami wirusa pochodzącego z wymiocin i kału. Okres inkubacji dla rotawirusa to 1-3 dni. Mimo iż, optymalny czas do pobierania próbki i wykrywania antygenu przypada na drugi i piąty dzień choroby, rotawirus nadal można znaleźć tak długo, jak trwa biegunka. W klimacie umiarkowanym zakażenia rotawirusem występują głównie w miesiącach zimowych. Najczęściej obserwuje się zakażenia u dzieci do 2-ego roku życia, ale stwierdzano je również u pacjentów w różnym wieku. Wskazuje się, że adenowirusy odpowiadają za biegunkę u 4-15% pacjentów hospitalizowanych z powodu zakażeń przewodu pokarmowego. Szybka i dokładna diagnoza zakażenia spowodowanego adenowirusem jest pomocna w ustaleniu etiologii zakażenia, oraz wyboru ścieżki leczenia.

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Test składa się z opakowania, które jest jakościowym testem immunochromatograficznym pozwalającym na detekcję rotawirusa i adenowirusa w próbkach kału ludzkiego. Membrana testu jest pokryta przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom rotawirusa w rejonie testowym T1 oraz przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom adenowirusa w rejonie T2. Podczas analizy, dzięki zjawiskom kapilarnym rozcieńczona próbka kału migruje w górę po membranie testu, napotykać na cząsteczki pokryte przeciwciałami skierowanymi przeciwko rota- i adenowirusom, generuje kolorowe linie odpowiadające na poziomie linii testowych T1 i T2. Brak kolorowej linii oznacza wynik negatywny. Pozostały rozwój przesuwa się w kierunku odczytnika kontrolnego i wiąże się z koniugatem kontrolnym, tworząc czerwoną linię kontrolną (C), która potwierdza prawidłowe działanie testu.

ODCZYNNIKI

Test składa się z opakowania, które jest jakościowym testem immunochromatograficznym pozwalającym na detekcję rotawirusa i adenowirusa w próbkach kału ludzkiego.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Test przeznaczony tylko do diagnostyki in vitro. Nie używać po terminie ważności
- Test kasetykowy powinien pozostać w szczelnym zamkniętym opakowaniu do czasu analizy
- Nie należy jeść, pić, palić w pomieszczeniu gdzie dokonuje się analiz
- Nie używać testu jeśli opakowanie jest uszkodzone
- Należy zachować szczególną ostrożność. Odpady należy usuwać zgodnie z narodowymi lub lokalnymi wytycznymi, dotyczącymi usuwania odpadów. Chociaż pozytywna kontrola w teście została inaktywizowana, należy traktować ją jako materiał potencjalnie zakaźny i wyrzucać po uprzednim zneutralizowaniu.
- Należy stosować ubranie ochronne: rękawiczki, fartuch, okulary. Rękawiczki oraz zużyte kasety należy utylizować zgodnie z GLP (Good Laboratory Practice) oraz zgodnie z lokalnymi regulacjami.
- Włготność i temperatura odbiegające od optymalnych warunków przechowywania mogą wpłynąć na wynik testu

PRZECZYSZCZANIE I TRWAŁOŚĆ

Przechowywać w oryginalnych, szczelnie zamkniętych opakowaniach zawierających pochłaniacz wilgoci, w temperaturze pokojowej lub w lodówce (2-30°C), do końca upływu terminu ważności, umieszczonego na opakowaniu. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Nie używać po terminie ważności. Nie otwierać opakowania jednostkowego zawierającego test, dopóki nie osiągnie temperatury pokojowej, aby uniknąć kondensacji pary wodnej na membranie

POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBKII

Próbkę kału należy pobrać jak najszybciej po wystąpieniu objawów zakażenia. Wykazano, że maksymalne wydalanie rotawirusa i adenowirusa w kale pacjentów przypada na 3-5 dzień po wystąpieniu objawów. Jeśli próbka jest pobierana długo po wystąpieniu biegunki, liczba antygenów może być niewystarczająca, aby uzyskać reakcję dodatnią lub może nie mieć związku z wystąpieniem biegunki.

- Próbkę kału musi być pobrana do czystego, suchego, wodoszczelnego pojemnika, który nie zawiera detergentów, konserwantów lub pożywek transportowych.
- Przed użyciem należy doprowadzić odczynnik do temperatury pokojowej

MATERIAŁY

Materiały dostarczone

- Test kasetykowy (25 sztuk), instrukcja dla testu (polski, angielski)
- Próbkówka reakcyjna z buforem ekstrakcyjnym

Materiały wymagane, ale niedostarczone

- Pojemniki na próbki kału, Zakraplacz, Minutnik
- Włóknka i pipeta do pobierania 80 µl jeśli wymagane

WYKONANIE ANALIZY

Przed rozpoczęciem analizy należy doprowadzić test, próbkę oraz bufor do temperatury pokojowej (15-30°C). Próbkę należy opisać nazwiskiem pacjenta lub jego numerem identyfikacyjnym.

- Aby uzyskać wystarczającą liczbę wirusów, należy pobrać odpowiednią ilość kału (1-2 ml lub 1-2 g) do czystego, suchego pojemnika. Najlepsze wyniki uzyskuje się jeśli test jest wykonany w ciągu 6 godzin od pobrania próbki. Jeśli w tym czasie analiza nie jest wykonana, próbki mogą być przechowywane przez 3 dni w temperaturze 2-8°C, przy dłuższym przechowywaniu, muszą być zamrożone w temperaturze -20°C.
- Próbkę kału należy pobrać i przenieść do próbki przy użyciu aplikatora.

- Dla próbek stałych – przy pomocy aplikatora ponakłuwać próbkę w kilku miejscach i przenieść materiał w ilości ok 50mg (1/4 wielkości ziarna groszku)
- Dla próbek ciekłych – przy użyciu zakraplacza pobrać ok 50 µl próbki.

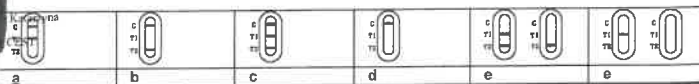
Zamknąć szczelnie próbkę testową, następnie należy wstrząsnąć próbką w celu dobrego wymieszania próbki z buforem. Odczekać 2 minuty.

3. Doprowadzić do temperatury pokojowej opakowanie z testem, użyć test tak szybko jak to możliwe.

4. Trzymając w pozycji pionowej próbkę testową odkręcić zatyczkę korka. Następnie przełożyć próbkę i nakropić dwie krople (ok. 80 µl) badanej próbki na okienko testowe (S). Włączyć minutnik (10 min). Należy unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w okienku.

5. Odczytać wynik po 10 minutach od momentu naniesienia próbki do okienka testu. Nie odczytywać wyniku po upływie 20 min.

Uwaga: Jeśli próbka nie migruje wzdłuż paska (obecność cząsteczek stałych), należy rozcieńczyć próbkę odwirować. Następnie zebrać 80 µl supernatantu i wykonać test ponownie.



INTERPRETACJA WYNIKÓW

- Rota POZYTYWNY:** Jedna linia w rejonie kontrolnym (C), druga w rejonie testowym T1.
- Adeno POZYTYWNY:** Jedna linia w rejonie kontrolnym (C), druga w rejonie testowym T2.
- Rota i Adeno POZYTYWNY:** Jedna linia w rejonie kontrolnym (C), po jednej w rejonach testowych T1 i T2.
- Uwaga:** Intensywność barwy linii będzie zależała od stężenia antygenów obecnych w próbce. Dlatego każdy odcień w rejonie (T) powinien być uważany za wynik pozytywny.
- NEGATYWNY:** Jedna kolorowa linia w rejonie kontrolnym, brak linii w rejonie testowym (T1/T2).
- WYNIK NIEWIĄŻNY:** zupełny brak linii lub brak linii kontrolnej wskazuje na błąd wykonania testu, nieprawidłowe działanie odczynników lub pogorszenie jakości paska testowego. W takim przypadku należy powtórzyć badanie z użyciem nowego testu.

KONTROLA JAKOŚCI

Test zawiera pasek kontrolny (C), potwierdzający wystarczającą ilość próbki, umożliwiającą przesłanie membrany oraz prawidłową technikę wykonania. Zgodnie z GLP zaleca się używanie pozytywnych i negatywnych kontroli (nie są dołączone do testu) w celu potwierdzenia właściwego działania testu.

OGRAZNIENIA TESTU

- Test powinien być wykorzystywany wyłącznie do wykrywania rota- i adenowirusów w próbkach kału ludzkiego.
- Test wskazuje tylko na obecność antygenów rota- i adenowirusów w próbce i nie powinien służyć jako jedyne kryterium diagnostyczne.
- Uzyskane przy użyciu testu wyniki, powinny być porównane z wszystkimi dostępnymi klinicznymi i laboratoryjnymi danymi.
- Jeśli wynik testu jest negatywny, a symptomy nie ustępują, należy zastosować inne, dodatkowe metody diagnostyczne. Wynik negatywny nie wskazuje zakażenia rota- i adenowirusem.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Wynik testu został porównany z wynikami otrzymanymi przy użyciu testu aglutynacji lateksowej, wskazując na dokładność 297,0%

CHARAKTERYSTYKA TESTU

Czułość i Specyficzność/Dokładność

Walidacji testu dokonano na podstawie próbek klinicznych pobranych od dzieci i młodzieży i porównano je z wynikami uzyskanymi dla testu aglutynacji lateksowej. Wyniki wskazują na wysoce wrażliwą i specyficzną metodę.

Metoda	Test aglutynacji lateksowej		ogółem
	Wynik	Wynik	
	Pozytywny	Negatywny	
	251	7	258
	7	236	243
	Negatywny		
ogółem	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

Metoda	Test aglutynacji lateksowej		ogółem
	Wynik	Wynik	
	Pozytywny	Negatywny	
	118	6	124
	6	251	257
	Negatywny		
ogółem	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

Powtarzalność wewnątrz serii

Precyzja w trakcie badań została określona przy użyciu 10 powtórzeń siedmiu próbek: negatywnej, rota- słabo pozytywnej, adeno- słabo pozytywnej, rota- średnio pozytywnej, adeno- średnio pozytywnej, rota- wysoce pozytywnej, adeno- wysoce pozytywnej. Próbkę zostały prawidłowo zidentyfikowane w > 99% przypadków.

Powtarzalność między seriami

Precyzję między seriami określono za pomocą 10 niezależnych testów na tych samych siedmiu próbkach: negatywnej, rota- słabo pozytywnej, adeno- słabo pozytywnej, rota- średnio pozytywnej, adeno- średnio pozytywnej, rota- wysoce pozytywnej, adeno- wysoce pozytywnej. Próbkę zostały prawidłowo zidentyfikowane w > 99% przypadków.

Substancje mogące zakłócać wynik Poprzez dodanie do próbek negatywnych i pozytywnych adenowirusa, określono następujące potencjalnie zakłócające substancje:

Kwas askorbinowy: 20mg/dl	Kwas szczawowy: 60mg/dl	Bilirubina: 100mg/dl
Kwas moczowy: 60mg/dl	Aspiryna: 20mg/dl	Mocznik: 2000mg/dl
Glukoza: 2000mg/dl	Kofeina: 40mg/dl	Albumina: 2000mg/dl

Interferencje

Przy użyciu testu Rotavirus and Adenovirus Combo Rapid Cassette sprawdzano reakcje krzyżowe i uznano je za ujemne dla poniższych mikroorganizmów przy mianie 1x10⁷ ml

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

BIBLIOGRAFIA

- Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
- WILHELM I, ROMAN E, SANCHEZ-FAUQUIER A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262
- Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38
- Hung, T et al (1984) Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. Lancet, May 26;1(8367): 1139-1142
- Cukor, G, Perron, DM; Hudson, R and Blacklow, NR (1984) Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Microb. 19: 888-892
- 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: 191-198.
- 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.
- Wood, D. J., K. B. Bisma, 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.
- 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.

	Uwaga, należy zapoznać się z dołączoną instrukcją		Liczba testów w zestawie		Autoryzowany Przedstawiciel na terenie Wspólnoty Europejskiej
	Produkt medyczny do diagnostyki in vitro		Termin przydatności do użycia		Wyrób jednorazowego użytku
	Przechowywać w temperaturze 2-30°C		Kod partii		Numer katalogowy
	Nie używać jeśli opakowanie jest uszkodzone		Wytwórca		Do wyrobu dołączona instrukcja