

Szybki, jednoetapowy test do jakościowego oznaczania rotawirusów i adenowirusów w ludzkim kale. Wyłącznie do profesjonalnego zastosowania w diagnostyce in vitro.

PRZEZNACZENIE

Szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale to szybki chromatograficzny test immunologiczny do jakościowego oznaczania rotawirusów i adenowirusów w ludzkim kale, który pomaga w diagnozowaniu infekcji rotawirusami i adenowirusami.

PODSUMOWANIE

Ostra biegunka u małych dzieci jest główną przyczyną zachorowalności na całym świecie i jest główną przyczyną śmiertelności w krajach rozwijających się. Rotawirus jest najczęstszym czynnikiem odpowiedzialnym za ostre zapalenie żołądka i jelit, głównie u małych dzieci. Jego odkrycie w 1973 r. oraz ustalenie jego związku z niemowlęcym zapaleniem żołądka i jelit stanowiły bardzo ważny postęp w badaniu zapalenia żołądka i jelit, które nie było spowodowane ostrym zakażeniem bakteryjnym. Rotawirus jest przenoszony drogą oralno-fekalną, okres inkubacji wynosi 1-3 dni. Chociaż próbki pobrane w drugim i piątym dniu choroby są idealne do oznaczania antygenów, rotawirus może nadal występować podczas trwania biegunki. Rotawirusowe zapalenie żołądka i jelit może powodować śmiertelność w populacjach zagrożonych, takich jak niemowlęta, osoby starsze i pacjenci z osłabioną odpornością. W klimacie umiarkowanym zakażenia rotawirusami występują głównie w miesiącach zimowych. Zgłaszano endemie i epidemie dotykające około tysiąca osób. U hospitalizowanych dzieci cierpiących na ostrą chorobę jelit do 50% analizowanego materiału miało wynik dodatni dla rotawirusa. Wirusy replikują się w jądrze komórkowym i mają tendencję do wywoływania u gospodarza charakterystycznego efektu cytopatycznego (CPE). Ponieważ hodowla rotawirusa jest niezwykle trudna, rzadko stosuje się izolację wirusa w diagnostyce infekcji. Zamiast tego opracowano różne techniki oznaczania rotawirusa w kale.

Badania wykazały, że adenowirusy jelitowe, głównie Ad40 i Ad41, są główną przyczyną biegunki u wielu z chorych dzieci, ustępując jedynie rotawirusom. Te patogeny wirusowe zostały wyizolowane na całym świecie i mogą powodować biegunkę u dzieci przez cały rok. Zakażenia najczęściej obserwuje się 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. Szybka i dokładna diagnoza zapalenia żołądka i jelit wywołanego adenowirusem jest pomocna w ustaleniu etiologii zapalenia żołądka i jelit oraz związanego z nim leczenia pacjenta. Inne techniki diagnostyczne, takie jak mikroskopia elektronowa (EM) i hybrydyzacja kwasu nukleinowego, są kosztowne i pracochłonne. Ze względu na samoograniczający się charakter infekcji adenowirusem, takie kosztowne i pracochłonne testy mogą nie być konieczne. Szybki test kasetyowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale to szybki chromatograficzny test immunologiczny do jakościowego oznaczania rotawirusów i adenowirusów w próbkach ludzkiego kału dający wyniki w ciągu 10 minut. Test wykorzystuje przeciwciała swoiste dla rotawirusów i adenowirusów do selektywnego oznaczania rotawirusów i adenowirusów w próbkach ludzkiego kału.

ZASADA DZIAŁANIA

Szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale to jakościowy test immunologiczny metodą przepływu bocznego do oznaczania rotawirusów i adenowirusów w próbkach ludzkiego kału.

W tym teście membrana została wstępnie powleczone przeciwciałem przeciwko rotawirusowi w obszarze linii testowej T1 i przeciwciałem przeciwko adenowirusowi w obszarze linii testowej T2. Podczas testu próbka reaguje z cząstką powleczone przeciwciałami przeciwko rotawirusowi i przeciwciałami przeciwko adenowirusowi. Mieszanina migruje w górę na membranie wskutek działania sił kapilarnych, reagując z przeciwciałami przeciwko rotawirusowi i przeciwciałami przeciwko adenowirusowi na membranie i generując barwną linię. Obecność tych barwnych linii w obszarze testowym wskazuje na wynik dodatni, natomiast ich brak na wynik ujemny. Jako kontrola poprawności testu, czerwona linia będzie zawsze pojawiać się w obszarze linii kontrolnej, wskazując, że została dodana odpowiednia objętość próbki i nastąpiło przesiąkanie membrany.

ODCZYNNIKI

Test zawiera cząstki powleczone przeciwciałem przeciwko rotawirusowi i przeciwciałem przeciwko adenowirusowi oraz powleczone na membranie przeciwciała przeciwko rotawirusowi i przeciwciała przeciwko adenowirusowi.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wyłącznie do profesjonalnego zastosowania w diagnostyce in vitro. Nie używać po upływie daty ważności.
- Test powinien pozostać w szczelnie zamkniętej saszetce do momentu użycia.
- Nie jeść, nie pić ani nie palić w obszarze pracy z próbkami i zestawami testowymi.
- Nie używać testu, jeśli saszetka jest uszkodzona.
- Ze wszystkimi próbkami należy obchodzić się tak, jakby zawierały czynniki zakaźne. Należy przestrzegać ustalonych środków ostrożności przed zagrożeniami mikrobiologicznymi we wszystkich przeprowadzanych testach i postępować zgodnie ze standardowymi procedurami prawidłowej utylizacji próbek.



A R G E N T A



Importer: Argenta Sp. z o.o.
ul. Polska 114, 60-401 Poznań
tel: +48 61 847 46 37
mail: argenta@argenta.com.pl

- Podczas badania próbek należy nosić odzież ochronną, taką jak fartuchy laboratoryjne, rękawice jednorazowe i ochronę oczu.
- Zużyty test należy wyrzucić zgodnie z lokalnymi przepisami.
- Wilgotność i temperatura mogą niekorzystnie wpływać na wyniki.

PRZECZYSZCZANIE I STABILNOŚĆ

Przechowywać w szczelnie zamkniętych saszetkach w temperaturze pokojowej lub w lodówce (2-30°C). Test zachowuje stabilność do upływu daty ważności wydrukowanej na zamkniętej saszetce. Test powinien pozostać w zamkniętej saszetce zawierającej środek pochłaniający wilgoć do momentu użycia. NIE ZAMRAŻAĆ. Nie używać po upływie terminu ważności.

POBIERANIE I OPRACOWYWANIE PRÓBEK

- Oznaczanie wirusów jest efektywniejsze, gdy próbki są pobierane na początku wystąpienia objawów. Odnotowano, że maksymalne wydalanie rotawirusa i adenowirusa w kale pacjentów z zapaleniem żołądka i jelit następuje 3-5 dni po wystąpieniu objawów. Jeśli próbki zostaną pobrane długo po wystąpieniu biegunki, ilość antygenu może nie być wystarczająca do uzyskania dodatniej reakcji lub wykryte antygeny mogą nie być połączone z epizodem biegunki.
- Próbkę kału należy pobrać do czystego, suchego, wodoodpornego pojemnika niezawierającego detergentów, środków konserwujących ani pożywek transportowych.
- Przed użyciem doprowadzić niezbędne odczynniki do temperatury pokojowej.

MATERIAŁY

Dołączone materiały: kasetki testowe, próbówki do pobierania próbek z buforem ekstrakcyjnym, ulotka dołączona do opakowania, kroplomierz

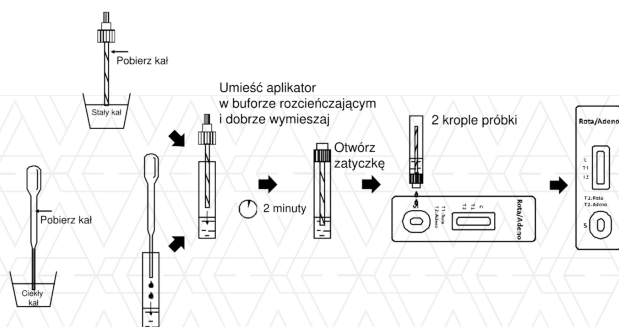
Materiały wymagane, ale niedostarczone: pojemnik do podbierania próbek, stoper, wірówka i pipeta do dozowania 80 μ l (w razie potrzeby)

INSTRUKCJA UŻYTKOWANIA

Przed przeprowadzeniem badania pozostawić kasetkę testową, próbkę i bufor do osiągnięcia temperatury pokojowej (15-30°C).

1. Aby pobrać próbkę kału:
 - Zebrać wystarczającą ilość kału (1-2 ml lub 1-2 g) do czystego, suchego pojemnika na próbkę, aby uzyskać maksymalną ilość cząstek wirusa. Najlepsze wyniki zostaną uzyskane, jeśli test zostanie przeprowadzony w ciągu 6 godzin po pobraniu. Pobrąną próbkę można przechowywać przez 3 dni w temperaturze 2-8°C, jeśli nie zostanie zbadana w ciągu 6 godzin od pobrania. W przypadku długotrwałego przechowywania próbki należy przechowywać w temperaturze poniżej -20°C.
2. Aby opracować próbkę kału:
 - Próbki stałe: Odkręcić nakrętkę probówki do pobierania próbek, a następnie wbić aplikator do pobierania próbek w próbkę kału w co najmniej 3 różnych dowolnych miejscach, aby zebrać około 50 mg kału (co odpowiada 1/4 wielkości ziarnka grochu). Nie należy pobierać próbek kału, zgarniając jak łyżeczką.
 - Próbki płynne: Trzymając zakraplacz pionowo, pobrać próbkę kału, a następnie przenieść 2 krople płynnej próbki (około 50 µl) do probówki do pobierania próbek zawierającej bufor ekstrakcyjny.
3. Przed otwarciem doprowadzić szaszkę do temperatury pokojowej. Wyjąć kasetkę testową z foliowej szaszki i użyć w ciągu godziny. Najlepsze wyniki zostaną uzyskane, jeśli badanie zostanie przeprowadzone natychmiast po otwarciu foliowej szaszki.
4. Trzymać probówkę do pobierania próbek pionowo i utworzyć nasadkę na końcówce. Odwrócić probówkę do pobierania próbek i nanieść 2 pełne krople wyekstrahowanej próbki (około 80 µl) do dołka na próbkę (S) kasetki testowej, a następnie uruchomić stoper. Unikać tworzenia się pęcherzyków powietrza w dołku na próbkę (S). Patrz ilustracja niżej.
5. Odczytać wyniki po 10 minutach od naniesienia próbki. Nie należy odczytywać wyników testu po 20 minutach.

Ważne: Jeśli próbka nie migruje (obecnie są cząstki próbek!), należy odwirować wyekstrahowane próbki zawarte w fiolce z buforem ekstrakcyjnym. Zebrać 80 µl supernatantu, zaaplikować do dołka na próbkę (S). Uruchomić stoper i kontynuować od kroku 5 powyższej instrukcji.



INTERPRETACJA WYNIKÓW

(1)

C

T1

T2

(2)

C

T1

T2

(3)

C

T1

T2

WYNIK DODATNI:

• dodatni dla rotawirusa (1): Barwna linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a kolejna barwna linia pojawia się w obszarze linii T1.

• dodatni dla adenowirusa (2): Barwna linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a kolejna barwna linia pojawia się w obszarze linii T2.

• dodatni dla rotawirusa i adenowirusa (3): Barwna linia pojawia się w obszarze linii kontrolnej (C), a dwie inne barwne linie pojawiają się odpowiednio w obszarze linii T1 i T2.

WAŻNE: Intensywność koloru w obszarze linii testowej (T1/T2) może się różnić w zależności od stężenia rotawirusa lub adenowirusa obecnych w próbce. W związku z tym każdy odcień koloru w obszarze linii testowej (T1/T2) należy uznać za wynik dodatni.

C

T1

T2

C

T1

T2

WYNIK UJEMNY:

w obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się jedna barwna linia. W obszarze linii testowej (T1/T2) nie pojawia się żadna linia.

C

T1

T2

C

T1

T2

WYNIK NIEWAŻNY:

nie pojawia się linia kontrolna (C). Niewystarczająca objętość próbek lub nieprawidłowa technika procedury to najbardziej prawdopodobne przyczyny błędów linii kontrolnej. Należy przeanalizować procedurę i powtórzyć badanie z nowym testem. Jeśli problem będzie się powtarzał, należy natychmiast przerwać korzystanie z zestawu testowego i skontaktować się z lokalnym dystrybutorem.

KONTROLA JAKOŚCI

Wewnętrzna kontrola proceduralna jest zawarta w teście. Barwna linia pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) jest uważana za wewnętrzną kontrolę prawidłowego przebiegu badania. Potwierdza wystarczającą objętość próbek, odpowiedni przebieg zjawiska kapilarnego na membranie i prawidłową technikę postępowania. Standardy kontroli nie są dostarczane z tym zestawem; zaleca się jednak, aby kontrole dodatnie i ujemne były wykonywane jako dobra praktyka laboratoryjna w celu potwierdzenia procedury testowej i zweryfikowania prawidłowego wykonania testu.

OGRANICZENIA

1. Szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale jest przeznaczony wyłącznie do diagnostyki in vitro. Test należy stosować wyłącznie do oznaczania ludzkiego rotawirusa i adenowirusa w próbkach kału. Za pomocą tego testu jakościowego nie można określić ani wartości ilościowej, ani tempa wzrostu stężenia ludzkiego rotawirusa i adenowirusa.
2. Szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale będzie wskazywać wyłącznie na obecność rotawirusa i adenowirusa w próbce i nie powinien być używany jako jedyne kryterium etiologiczne dla uznania rotawirusa i adenowirusa za czynnik etiologiczny biegunki.
3. Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, wszystkie wyniki należy rozpatrywać wraz z innymi informacjami klinicznymi dostępnymi lekarzowi.
4. Jeśli wynik testu jest ujemny, a objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się wykonanie dodatkowych badań innymi metodami klinicznymi. Wynik ujemny w żadnym momencie nie wyklucza możliwości zakażenia rotawirusem lub adenowirusem o niskim stężeniu cząstek wirusa.

CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Kliniczna czułość, swoistość i dokładność

Skuteczność szybkiego testu kasetkowego do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale została oceniona na próbkach klinicznych pobranych od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu z metodą aglutynacji lateksowej. Wyniki pokazują, że szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w kale ma wysoką czułość i swoistość dla rotawirusa i adenowirusa.

Metoda		Aglutynacja lateksowa		Łączne wyniki
Szybki test kasetkowy do wykrywania rotawirusów w kale	Wyniki	Dodatni	Ujemny	
	Dodatni	251	7	
	Ujemny	7	236	
Łącznie		258	243	501

Czułość względna: 97,3% (95%CI*: 94,5%-98,9%)

Swoistość względna : 97,1% (95%CI*: 94,2%-98,8%)

Dokładność względna: 97,2% (95%CI*: 95,4%-98,5%)

*Przedział ufności

Metoda		Aglutynacja lateksowa		Łączne wyniki
Szybki test kasetkowy do wykrywania adenowirusów w kale	Wyniki	Dodatni	Ujemny	
	Dodatni	118	6	
	Ujemny	6	251	
Łącznie		124	257	381

Czułość względna: 95,2% (95%CI*: 89,8%-98,2%)

Swoistość względna : 97,1% (95%CI*: 95,0%-99,1%)

Dokładność względna: 97,2% (95%CI*: 94,6%-98,4%)

*Przedział ufności



Precyzja

W obrębie testu: precyzję wewnątrzserijną określono przy użyciu 10 powtórzeń z siedmiu próbek: ujemnej, rotawirusa o niskim wyniku dodatnim, adenowirusa o niskim wyniku dodatnim, rotawirusa o średnim wyniku dodatnim, adenowirusa o średnim wyniku dodatnim, rotawirusa o wysokim wyniku dodatnim i adenowirusa o wysokim wyniku dodatnim. Próbki zostały prawidłowo zidentyfikowane w >99% przypadków.

Pomiędzy testami: precyzję między seriami określono za pomocą 10 niezależnych testów na tych samych siedmiu próbkach: ujemnej, o niskim wyniku dodatnim dla rotawirusa, o niskim wyniku dodatnim dla adenowirusa, o średnim wyniku dodatnim dla rotawirusa, o średnim wyniku dodatnim dla adenowirusa, o wysokim wyniku dodatnim dla rotawirusa i o wysokim wyniku dodatnim dla adenowirusa. Próbki zostały prawidłowo zidentyfikowane w >99% przypadków.

Reaktywność krzyżowa: reaktywność krzyżową z następującymi drobnoustrojami badano przy stężeniu 1,0x10⁹ drobnoustrojów/ml. Następujące drobnoustroje uzyskały wynik ujemny w badaniu za pomocą szybkiego testu kasetkowego do wykrywania rotawirusów w kale:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Paciorkowce grupy B</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Paciorkowce grupy C</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>	

Substancje interferujące:

Do próbek ujemnych i dodatnich dla adenowirusa dodano następujące potencjalnie substancje zakłócające.

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

BIBLIOGRAFIA

1.Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.

2.WILHELM 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 I: 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. Micro. 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.

INDEKS SYMBOLI

	Uwaga
	Do zastosowania wyłącznie w diagnostyce <i>in vitro</i>
	Przechowywać w temperaturze 2-30°C
	Nie używać, jeżeli opakowanie zostało uszkodzone
	Liczba testów w zestawie
	Data ważności
	Numer partii
	Producent
	Upoważniony przedstawiciel w UE
	Nie używać ponownie
	Nr katalogowy
	Należy zapoznać się z instrukcją użytkowania