

Jednoetapowy test do wykrywania antygenu Rotawirusa i Adenowirusa w kale.

Tylko do użytku profesjonalnego w diagnostyce *in vitro*.

Nr kat. Produktu: TRA01

Test kasetkowy Combo Rotawirus/Adenowirus wykrywający jakościowo antygeny rotawirusa i adenowirusa w ludzkim kale.

PRZEZNACZENIE

Test kasetkowy Combo Rotawirus/Adenowirus jest szybkim, immunochromatograficznym testem do jakościowego wykrywania antygenów rotawirusa i adenowirusa w próbkach ludzkiego kału i jest pomocny w diagnozie zakażenia rotawirusem i adenowirusem.

INFORMACJA OGÓLNA

Na całym świecie, u małych dzieci główną przyczyną stanów chorobowych oraz śmiertelności w krajach rozwijających się są ostre zaburzenia biegunkowe. Rotawirus jest najbardziej rozpowszechnionym czynnikiem odpowiedzialnym za stany zapalne żołądka i jelit, głównie u małych dzieci. Jego odkrycie w 1973r oraz powiązanie z dziecięcymi zaburzeniami żołądkowo-jelitowymi stanowiły znaczący postęp w badaniu tych zaburzeń, nie spowodowanych przez ostrą infekcję bakteryjną. Rotawirus jest przekazywany drogą fekalno-oralną; czas inkubacji wynosi 1 – 3 dni. Optymalne do wykrycia antygenu są próbki pobrane w drugim i piątym dniu choroby; obecność rotawirusa można nadal stwierdzić przy utrzymującej się biegunce. Zaburzenia żołądkowo-jelitowe spowodowane wirusem rota mogą prowadzić do zgonu w populacjach szczególnie narażonych, takich jak niemowlęta, ludzie starsi oraz o obniżonej odporności. W klimacie umiarkowanym infekcje rotawirusem pojawiają się głównie w miesiącach zimowych. Odnotowano też endemie jak i epidemie obejmujące tysiące ludzi. U dzieci hospitalizowanych, cierpiących na ostre choroby jelitowe, do 50 % analizowanych próbek było dodatnich na rotawirus. Wirusy replikują się w jądrze komórkowym i mają skłonność do swoistości wobec gospodarza, dając charakterystyczny efekt cytopatyczny (CPE). Ponieważ hodowla rotawirusa jest niezwykle trudna, na ogół nie używa się izolatu wirusa w diagnozie infekcji. W zamian opracowano wiele różnych metod do wykrywania rotawirusa w ludzkim kale. Według badań, drugą po infekcji rotawirusem przyczyną biegunki u dzieci są głównie adenowirusy jelitowe Ad40 i Ad41.

Wirusy te zostały wyizolowane wszędzie na świecie i mogą powodować biegunkę o każdej porze roku. Zakażenia często atakują dzieci poniżej drugiego roku życia, ale zasadniczo pacjenci pochodzą z różnych grup wiekowych. Szybka i dokładna diagnoza żołądkowo-jelitowych stanów zapalnych spowodowanych infekcją adenowirusem jest pomocna w ustaleniu etiologii zaburzenia oraz odpowiedniego leczenia pacjenta. Inne metody diagnostyczne, takie jak mikroskopia elektronowa (EM) oraz hybrydyzacja 36kwasu nukleinowego, są kosztowne i pracochłonne. Biorąc pod uwagę samoograniczającą się naturę adenowirusa, tak drogie i pracochłonne badania nie muszą być konieczne.

ODCZYNNIKI

Test zawiera cząsteczki opłaszczone przeciwciałami przeciwko rotawirusowi i przeciwciałami przeciwko adenowirusowi oraz przeciwciała przeciwko rotawirusowi i przeciwciała przeciwko adenowirusowi unieruchomione na membranie.

METODA

Test Combo na rotawirusa i adneowirusa jest szybkim, jakościowym testem immunochromatograficznym do wykrywania rotawirusa i adneowirusa w próbkach ludzkiego kału.

Obszar testowy „R” kasetki został opłaszczony przeciwciałami przeciwko rotawirusowi, a obszar testowy „A” kasetki został opłaszczony przeciwciałami przeciwko adenowirusowi. W trakcie wykonywania badania próbka dodana do studzienki na próbkę reaguje z cząsteczkami opłaszczonymi przeciwciałami przeciwko rotawirusowi i/lub przeciwciałami przeciwko adenowirusowi. Powstały kompleks przemieszcza się kapilarnie do drugiego końca membrany. Jeśli w próbce znajdują się antygeny rotawirusa, zostaną one związane z przeciwciałami przeciwko rotawirusowi w obszarze testowym „R”, tworząc widoczną, barwną linię, która oznacza, że wynik jest dodatni. Jeśli w próbce znajdują się antygeny adenowirusa, zostaną one związane z przeciwciałami przeciwko adenowirusowi w obszarze testowym „A”, tworząc widoczną, barwną linię, która oznacza, że wynik jest dodatni. Jeśli próbka nie zawiera antygenów rotawirusa i/lub adenowirusa, barwna linia nie pojawi się w obszarach testowych „R” i/lub „A”, co oznacza, że wynik jest ujemny. W obszarze kontrolnym „C” zawsze pojawia się barwna linia, stanowiąca wewnętrzną kontrolę wykonania; linia ta potwierdza, że użyto właściwej objętości próbki i wystąpiło zwilżenie membrany.

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI I OGRANICZENIA

1. Tylko do profesjonalnego użytku diagnostycznego *in vitro*.
2. Nie używać testu po upływie daty ważności. Test jednokrotnego użytku - nie używać ponownie.
3. Płytkę testową powinna pozostawać w oryginalnie zamkniętej torebce do momentu użycia. Nie stosować zestawu testowego, jeżeli torebka jest uszkodzona.
4. Używać jednorazowych rękawiczek podczas pracy z testem.
5. Do każdej próbki stosować nową pipetkę.
6. Wszystkie próbki pacjentów należy traktować jako potencjalnie źródło zakażenia diagnozowaną chorobą. W trakcie wszystkich procedur należy przestrzegać ustalonych środków ostrożności wobec zagrożenia mikrobiologicznego oraz postępować zgodnie ze standardowymi procedurami stosowanymi do właściwego usuwania próbek.
7. Niniejszy test wskaże tylko obecność lub brak antygenów rotawirusa i adenowirusa w próbce i nie powinien być stosowany jako wyłączna podstawa do stwierdzenia, że czynnikiem etiologicznym biegunki jest rotawirus i adenowirus.
Podobnie jak w przypadku wszystkich testów diagnostycznych, należy pamiętać, że diagnozy identyfikującej nie można opierać na wyniku jednego testu. Diagnoza może zostać przeprowadzona przez specjalistę, po ocenie wszystkich wyników klinicznych i laboratoryjnych.
8. Jeśli wynik badania jest ujemny, a objawy kliniczne utrzymują się, zaleca się przeprowadzenie badań dodatkowych przy zastosowaniu innych metod klinicznych. Wynik negatywny w żadnym wypadku nie wyklucza możliwości zakażenia rotawirusem i adenowirusem.

PRZECHOWYWANIE

Płytkę testową powinna być przechowywana z daleka od źródeł promieniowania, bezpośredniego światła słonecznego, wilgoci i ciepła, w temperaturze (+4...30°C). Nie zamrażać. Test w opakowaniu oryginalnym, przechowywany w opisanych warunkach pozostaje stabilny do daty ważności. Płytkę testową należy zużyć w ciągu jednej godziny po otwarciu folii.

Skład zestawu: Płytki testowe, pipetki, próbki w buforze ekstrakcyjnym oraz instrukcja używania.

Materiały dodatkowe, wymagane ale nie dostarczone: Pojemnik do pobrania próbki, wirówka oraz zegar.

Materiały dodatkowe, zalecane ale nie dostarczone: Mikropipetki do przeniesienia objętości próbki wskazanej w procedurze wykonania;

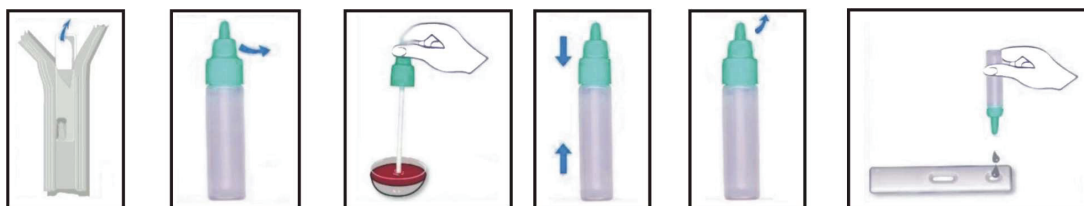
dotatnie i ujemne materiały kontrolne.

WYKONANIE BADANIA

Wyjąć płytkę testową z torebki. Doprowadzić test, bufor oraz próbki do temperatury pokojowej.

- Próbka kału:**
Próbkę kału należy pobrać do czystego, suchego, szczelnego pojemnika nie zawierającego detergentów, środków konserwujących czy podłoża transportowego. W celu pozyskania wystarczającej ilości antygenu (potencjalnie obecnego) należy pobrać od pojemnika na próbkę 1 – 2 ml lub 1 – 2 g kału. Optymalne wyniki zapewni wykonanie badania w przeciągu 6 godzin od pobrania próbki. Jeśli pobrane próbki nie zostaną zbadane w przeciągu 6 godzin, można je przechowywać przez 3 dni w temp. 2 – 8 °C. Przy dłuższym czasie przechowania należy zachować temp. poniżej – 20 °C.
- Przygotowanie próbki kału:**
 - Próbki stałe:**
Odkręcić nakrętkę z probówki na próbkę. Wprowadzić końcówkę aplikatora do próbki kału w trzech różnych miejscach, tak aby pobrać około 50 mg kału. Wkręcić aplikator z próbką z powrotem do probówki.
 - Próbki płynne:**
Trzymając pipetkę pionowo wciągnąć kilka kropli kału do pipetki. Dodać 2 krople (około 50 µl) próbki do probówki na próbkę.
- Nakręcić dokładnie nakrętkę probówki na próbkę i poprzez potrząsanie dokładnie wymieszać próbkę z buforem. Odczekać dwie minuty.
- Trzymając probówkę nakrętką do góry odłamać końcówkę nakrętki. Dodać dwie krople (około 80 µl) wyekstrahowanej próbki do studzienki na próbkę na kasetce. Nie dopuścić do powstania pęcherzyków powietrza.
- W zależności od stężenia antygenu rotawirusa i antygenu adenowirusa w próbce test może reagować nawet po 5 minutach. Wyniki należy odczytywać po 10 minutach, jak przedstawiono poniżej. Wyniki, które powstały po 20 minutach należy uważać za nieważne.

UWAGA: Jeśli wyekstrahowana próbka nie przemieszcza się na membranę z powodu cząsteczek, należy odwirować wyekstrahowaną próbkę w probówce na próbkę. Następnie należy pobrać 80 µl supernatantu i dodać go do studzienki na próbkę na nowej kasetce; dalej postępować zgodnie z instrukcją, od pkt. 5.



INTERPRETACJA WYNIKÓW

Ujemny: Tylko jedna barwna linia jest widoczna w obszarze „C”, wskazując, że antygen rotawirusa i antygen adenowirusa nie jest obecny.

Dodatni:

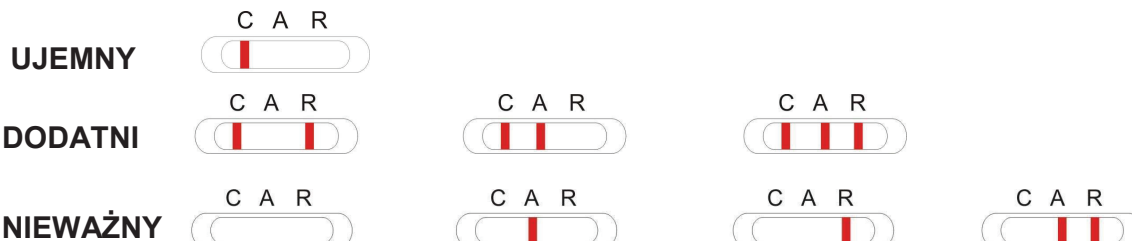
Dodatni na rotawirusa: Dwie barwne linie są widoczne w obszarach C i R, co wskazuje na obecność antygenu rotawirusa.

Dodatni na adenowirusa: Dwie barwne linie są widoczne w obszarach C i A, co wskazuje na obecność antygenu adenowirusa.

Dodatni na rotawirusa i adenowirusa: Barwne linie są widoczne w obszarach C, A i R co wskazuje na obecność antygenu rotawirusa i adenowirusa.

Niskie stężenie antygenu rotawirusa i/lub adenowirusa może dać niewyraźną linię w obszarze „R” i/lub „A”. Nawet taka niewyraźna linia w obszarze „R” i/lub „A” powinna być interpretowana jako „dodatnia”.

Nieważny: Brak widocznej barwnej linii w obszarze „C”; badanie należy powtórzyć stosując nową kasetkę testową.



KONTROLA JAKOŚCI

Płytki testowe posiadają wbudowaną kontrolę jakości wykonania. Po zakończeniu badania widoczna będzie barwna linia w obszarze „C” testu dla próbek ujemnych oraz barwna linia w obszarach „R” i/lub „A” i „C” dla próbek dodatnich. Pojawienie się linii kontrolnej „C” stanowi wewnętrzną kontrolę prawidłowego wykonania badania. Linia ta wskazuje, że dodana została wystarczająca objętość próbki oraz, że wynik testu jest ważny. W celu weryfikacji poprawności wykonania testu zaleca się stosowanie kontroli ujemnej i dodatniej jako kontroli zewnętrznej. Użytkownicy powinni postępować zgodnie z lokalnymi wytycznymi dotyczącymi zewnętrznej kontroli jakości.

WARTOŚCI OCZEKIWANE

Przeprowadzono porównanie płytki testowej Combo Rotawirus/Adenowirus z metodą lateksowego badania aglutynacyjnego, otrzymując całkowitą dokładność > 99.0%.

OCENA DZIAŁANIA

Czułość, swoistość i dokładność w ocenie klinicznej.

Działanie testu Combo Rotawirus/ Adenowirus zostało ocenione za pomocą 545 próbek pobranych od dzieci i młodych ludzi w porównaniu z metodą aglutynacji lateksowej. Wyniki pokazują, że test Combo Rotawirus/ Adenowirus posiada wysoką czułość i swoistość wobec antygenów rotawirusa i adenowirusa.

Metoda		Agglutynacja lateksowa		Wszystkie wyniki
Test	Wyniki	Dodatnie	Ujemne	
Rotawirus	Dodatnie	185	3	188
	Ujemne	0	162	162
Wszystkie wyniki		185	165	350

Czułość: 100%
Wartość predyktywna+: 98%

Swoistość: 98%
Wartość predyktywna -: 100%

Przedział ufności *95%

Metoda		Agglutynacja lateksowa		Wszystkie wyniki
Test	Wyniki	Dodatnie	Ujemne	
Adenowirus	Dodatnie	80	1	81
	Ujemne	0	169	169
Wszystkie wyniki		80	170	250

Czułość: 100%
Wartość predyktywna+: 99%

Swoistość: 99%
Wartość predyktywna -: 100%

* Przedział ufności *95%

Precyzja wewnątrzserijna

Precyzja w serii tego samego testu została potwierdzona w 10 powtórzeniach siedmiu próbek: ujemna, nisko dodatnia na rotawirusa, nisko dodatnia na adenowirusa, średnio dodatnia na rotawirusa, średnio dodatnia na adenowirusa, wysoko dodatnia na rotawirusa i wysoko dodatnia na adenowirusa. Próbkę zostały poprawnie zidentyfikowane w >99% przypadków.

Precyzja międzyseryjna

Precyzja pomiędzy seriami tego samego testu została potwierdzona w 10 niezależnych badaniach tych samych siedmiu próbkach ujemna, nisko dodatnia na rotawirusa, nisko dodatnia na adenowirusa, średnio dodatnia na rotawirusa, średnio dodatnia na adenowirusa, wysoko dodatnia na rotawirusa i wysoko dodatnia na adenowirusa. Próbkę zostały poprawnie zidentyfikowane w >99% przypadków.

REAKTYWNOŚĆ KRŻYŻOWA

Reaktywność krzyżowa została zbadana dla poniższych próbek ($1,0 \times 10^9$ drobnoustrojów/ml); i dla wszystkich stwierdzono wynik ujemny przy badaniu z płytka testową Combo Rotawirus/Adenowirus.

Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa
Enterococcus faecalis
Group C Streptococcus
Klebsiella pneumoniae
Branhamella catarrhalis
Candida albicans

Proteus mirabilis
Acinetobacter spp
Salmonella choleraesuis
Gardnerella vaginalis
Acinetobacter calcoaceticus
E. coli
Chlamydia trachomatis

Neisseria gonorrhoea
Group B Streptococcus
Proteus vulgaris
Enterococcus faecium
Hemophilus influenzae
Neisseria meningitidis

LITERATURA:

1. Anderson, E.J. and Weber S.G. (2004), Rotavirus infection in adults. The Lancet Infect. Dis, Vol. 4, Iss. 2, pp 91 – 99.
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 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 Stool by Using Monoclonal Antibody. J.Clin. Microbiol.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. Torkin. "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.



TÜRKLAB TIBBİ MALZEMELER SAN. TİC. A.Ş.

A.O.S.B. 10040 Sokak No: 20 Çiğli/İzmir/ Türkiye

tel: +90 232 376 80 81 (pbx) fax: +90 232 376 80 40 www.turklab.com.tr info@turklab.com.tr



Dystrybutor w Polsce:

P.P.H.U. BOR-POL

Pl. Jaśminu 2

44-152 Gliwice

tel: 032/ 270 61 35 fax: 032/ 237 86 21 www.borpol.com.pl borpol@borpol.com.pl

Zastosowane symbole:

	Wytwórca		Zawartość wystarcza na <n> testów
	Tylko do użytku w diagnostyce in vitro		Nr serii
	Tylko do jednorazowego użytku		Zużyć do
	Przeczytaj instrukcję stosowania		Przechowywać w temperaturze
	Autoryzowany przedstawiciel w Europie		Numer katalogowy

Data opracowania instrukcji używania: 12.09.2011

Rev. 1

C08.TRA.01.