



CERTEST RSV
Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania antygenu RSV

CERTEST RSV

Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania
antygeny wirusa RSV

CERTEST BIOTEC S.L.



PRZEZNACZENIE

CerTest RSV Card jest jednostopniowym testem immunochromatograficznym do jakościowego wykrywania antygenu RSV w próbkach wymazów z nosa, popłuczyn z nosogardzieli i aspiratów z układu oddechowego.

CerTest RSV Card oferuje szybki i łatwy w wykonaniu przesiew mający na celu wstępną diagnozę infekcji RSV.

INFORMACJE OGÓLNE

Wirus RSV jest jednym z najczęstszych czynników odpowiedzialnych za zapalenie oskrzelików i płuc u noworodków i dzieci poniżej 1 roku życia. Choroby te najczęściej poprzedza wysoka gorączka, zakatarzony nos, kaszel i świszczący oddech. Ostre zapalenie dolnych dróg układu oddechowego może wystąpić w każdym wieku, szczególnie u osób starszych i osób z upośledzeniem pracy serca, płuc, lub układu odpornościowego. RSV jest rozprzestrzeniany poprzez bliski kontakt z zarażonymi, oraz kontakt z zanieczyszczonymi powierzchniami i przedmiotami.

ZASADA TESTU

CerTest RSV Card jest jakościowym, immunochromatograficznym testem do wykrywania antygenu RSV w próbkach wymazów z nosa, popłuczyn z nosogardzieli i aspiratów z układu oddechowego.

Membrana paska została pokryta w rejonie testowym mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw RSV, oraz króliczymi przeciwciałami poliklonalnymi w rejonie kontrolnym. Na drodze przeprowadzanej analizy, próbka reaguje z barwnym koniugatem (przeciwciała przeciw RSV z cząsteczkami czerwonego latexu). Powstała mieszanina wędruje na zasadzie sił kapilarnych do rejonu odczytu.

W przypadku próbki pozytywnej antygenu RSV łączą się z barwnymi koniugatami opłaszczonymi na nitrocelulozowych powierzchniach i migrują w dół paska zabierając ze sobą kompleksy antygenów i barwnych koniugatów. Dotarłszy do rejonu próbkowego z opłaszczonymi przeciwciałami reagują z nimi wytwarzając barwne prążki. Na membranie powstanie barwny czerwony prążek z kompleksów RSV, monoklonalnych przeciwciał i czerwonego polistyrenu.

W przypadku próbki negatywnej, antygeny RSV będą w próbce nieobecne, lub obecne w stężeniu poniżej poziomu detekcji testu i w efekcie nie wytworzą się żadne barwne kompleksy z opłaszczonymi na membranach przeciwciałami.

Bez względu na pozytywność, lub negatywność wyniku, powstała mieszanina wędruje na zasadzie sił kapilarnych do rejonu kontrolnego z opłaszczonymi specyficznymi proteinami gdzie zawsze w wyniku analizy powinien pojawić się zielony prążek kontrolny świadczący o: 1) wystarczającej objętości naniesionej na test próbki, 2) prawidłowym przepływie, 3) wewnętrznej kontroli stabilności odczynnika.

PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Test należy przechowywać w temperaturze 2 – 30°C w oryginalnym opakowaniu i użyć przed upłynięciem daty ważności. Po upłynięciu daty ważności producent nie gwarantuje poprawnego działania testu. Gwarancją nie są objęte również kasetki, których zewnętrzne opakowanie zostało uszkodzone.

Nie zamrażać.

ZASTRZEŻENIA

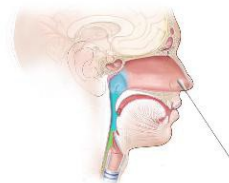
- Tylko do profesjonalnego użytku in vitro.
- Nie używać po upłynięciu daty ważności.
- Traktować wszystkie próbki i materiały, które weszły z nimi w kontakt jako potencjalnie zakaźne. Ze względu na zagrożenie zanieczyszczeniem, nie wykorzystywać jednej kasetki do dwóch różnych próbek.
- Po zużyciu, utylizować w sposób odpowiedni dla materiałów biologicznych.
- Odczynniki zawierają konserwant (<0,1 % azydku sodu). Unikać kontaktu ze skórą i błonami śluzowymi. Zapoznać się z dostępną na życzenie kartą charakterystyki substancji niebezpiecznej.
- Nie mieszać komponentów zestawu z innymi zestawami.
- Przestrzegać zasad GLP przy pracy.

POBIERANIE PRÓBK I JEJ PRZYGOTOWANIE

Próbki wymazów z nosa, popłuczyn z nosogardzieli i aspiratów z układu oddechowego powinny być pobierane do czystego pojemnika, a pomiar powinien być wykonany jak najszybciej. Można próbki przechowywać w lodówce (2-8°C) przez 8 godzin.

Wymazy z nosa:

1. Wyjąć wymazówkę z opakowania.
2. Pobrać próbkę sterylną wymazówką z jednego nozdrza.
3. Wsunąć wymazówkę w nozdrze do nosogardzieli obracając ją o ścianki nozdrza by próbka zawierała komórki i wydzielinę.
4. Powtórzyć procedurę dla drugiego nozdrza.
5. Wyjąć wymazówkę i poddać ją dalszej analizie tak szybko jak to możliwe.



Popłuczyny i aspiraty z nosa:

W przypadku dorosłych

1. Umieścić irygator w nozdrzu.
2. Pozwolić by sterylny roztwór soli popłynął do nosa (2,5 ml) i wypłynął z drugiej strony. Okręcać irygator tak, aby roztwór dosięgnął wszystkich możliwych powierzchni ścian nozdrza.
3. Pobrać tak otrzymane popłuczyny do czystego pojemnika na próbkę. Powtórzyć procedurę dla drugiego nozdrza i pobrać próbkę do tego samego pojemnika.

W przypadku dzieci

1. Użyć gruszki do nosa (aspirator) do wprowadzenia roztworu soli do jednego nozdrza przechylając głowę dziecka.
2. Zaaspirować wprowadzony roztwór gruszką i przenieść go do czystego pojemnika na próbkę.
3. Powtórzyć procedurę dla drugiego nozdrza i pobrać próbkę do tego samego pojemnika.



Próbki popłuczyn i aspiratów należy poddać dalszej analizie tak szybko jak to możliwe.

SKŁADNIKI ZESTAWU

- 20 kasetek pakowanych osobno,
- 20 plastikowych pipetek,
- 20 sterylnych wymazówek
- 20 próbek testowych
- kontrola pozytywna: wymazówka z inaktywowanym antygenem RSV reagent B (rozcieńczalnik do próbek),
- instrukcja dla użytkownika.

WYMAGANE MATERIAŁY NIEDOŁĄCZONE

- Pojemnik na próbkę,
- Rękawiczki jednorazowe,
- Minutnik.
- Vortex

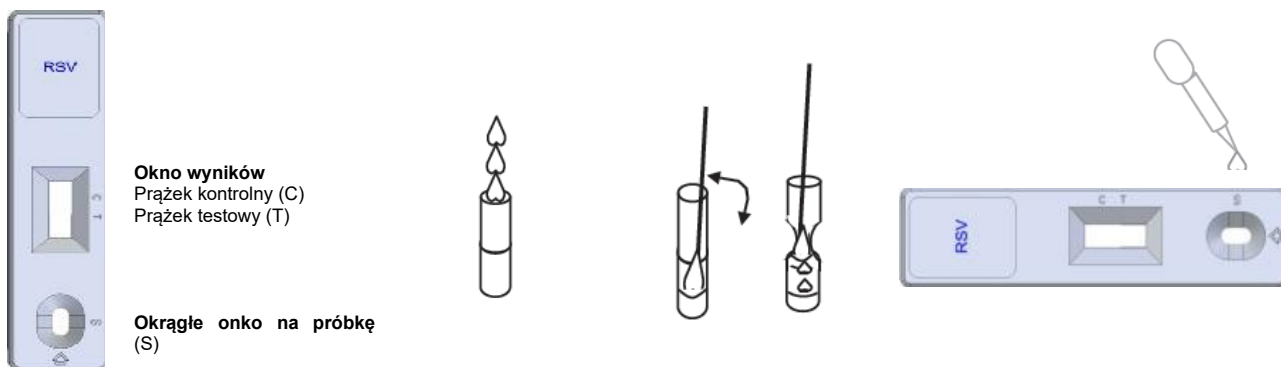
PROCEDURA TESTU

Przed użyciem sprowadzić kasetki, próbki i kontrole do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Kasetki należy wyjąć z opakowań przed samym rozpoczęciem procedury.

Procedura A - próbki wymazów:

1. Dodać 15 kropli reagentu B do próbek i natychmiast włożyć do środka wymazówkę.
2. Mieszać roztwór wymazówką poprzez silne dociskanie jej do ścianek próbki. Wykonać minimum 1 minutę. Im dokładniej zostanie wykonany niniejszy krok tym lepsze będą uzyskane wyniki. Usunąć zużytą wymazówkę cały czas dociskając ją o ścianki próbki by jak najwięcej cieczy z niej odzyskać.
3. Wyjąć kasetkę z opakowania.
4. Ułożyć kasetkę na równej powierzchni. Stosować oddzielne pipety do każdej próbki i kontroli. Zakropić 4 krople próbki do okrągłego okienka.
5. Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy.

Jeśli próbka nie przechodzi przez membranę pomieszać ją delikatnie pipetką. Jeśli i to nie pomaga ze względu na charakter próbki, zakropić jedną kroplę reagentu B i poczekać aż ciecz przepłynie przez membranę.

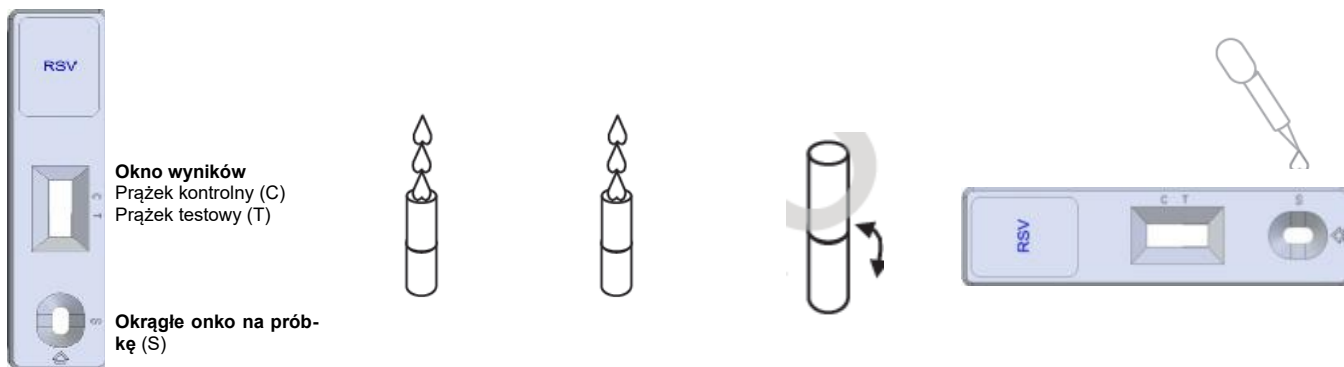


Dodać 15 kropli reagentu B
 Wprowadzić wymazówkę do próbki i mieszać przez 1 minutę w celu ekstrakcji
 Dodać 4 krople próbki do okrągłego okna na próbce (S)

Procedura B - próbki aspiratów i popłuczyn:

1. Dodać 6 kropli popłuczyn, lub aspiratu, oraz 9 kropli reagentu B do próbek. Mieszać energicznie na vorteksie przez 1 minutę. Mieszanie jest bardzo ważne dla wiarygodności wyniku.
2. Wyjąć kasetkę z opakowania.
3. Wymieszać roztwór przy użyciu pipetki. Im dokładniej zostanie wykonany niniejszy krok tym lepsze będą uzyskane wyniki.
4. Ułożyć kasetkę na równej powierzchni. Stosować oddzielne pipety do każdej próbki i kontroli. Zakropić 4 krople próbki do okrągłego okienka.
5. Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy.

Jeśli próbka nie przechodzi przez membranę pomieszać ją delikatnie pipetką. Jeśli i to nie pomaga ze względu na charakter próbki, zakropić jedną kroplę reagentu B i poczekać aż ciecz przepłynie przez membranę.



Dodać 6 kropli popłuczyn, lub aspiratu
 Dodać 9 kropli reagentu B
 Mieszać przez 1 minutę na vorteksie
 Dodać 4 krople próbki do okrągłego okna na próbce (S)

PROCEDURA KONTROLI POZYTYWNEJ



CERTEST RSV
Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania antygenu RSV

Kontrola pozytywna CerTest RSV Positive Control jest zewnętrznym urządzeniem kontrolnym do sprawdzania prawidłowości wykonania ekstrakcji, oraz testu. Kontrola pozytywna zawiera nieaktywne antygeny RSV zasuszone na wymazówce wraz ze środkiem konserwującym. Wykorzystać wymazówkę w przeciągu 2 godzin od otwarcia aluminiowej folii. Nie wykorzystywać wymazówki jeśli jej opakowanie było uszkodzone.

Przed użyciem sprawdzić kontrolę pozytywną do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Wymazówkę należy wyjąć z opakowania przed samym rozpoczęciem procedury.

- 1) Dodać do załączonej probówki testowej 15 kropli reagentu B i natychmiast wprowadzić wymazówkę do środka.
- 2) Mieszać wymazówką roztwór silnie dociskając ją do ścianek probówki testowej przez przynajmniej 1 minutę. Wyekstrahować z wymazówki tak dużo cieczy jak to możliwe, poprzez dociskanie jej do ścianek podczas wyjmowania z probówki. Usunąć wymazówkę.
- 3) Wyjąć kasetkę z opakowania.
- 4) Przy użyciu załączonej pipetki przenieść i zakropić 4 krople wyekstrahowanej kontroli pozytywnej do okrągłego okienka S.
- 5) Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy. Nie odczytywać wyników po upływie dłuższego czasu.

OCENA I INTERPRETACJA WYNIKÓW



Jeden zielony prążek w polu kontrolnym – Wynik negatywny na obecność antygenu RSV



Dwa barwne prążki. Jeden zielony w polu kontrolnym i jeden czerwony w polu testowym – Wynik pozytywny na obecność RSV



Brak zielonego prążka w polu kontrolnym – Wynik nieważny

Wynik nieważny: Nie pojawił się żaden zielony prążek w polu kontrolnym C, na membranie. Taka sytuacja jest spowodowana najczęściej: niedostateczną objętością próbki, błędnym wykonaniem testu, lub utratą stabilności odczynników. Należy raz jeszcze przeczytać instrukcję, oraz wykonać oznaczenie ponownie przy użyciu nowego testu. Jeśli problem się powtórzy należy skontaktować się z dostawcą.

UWAGI DO INTERPRETACJI WYNIKÓW

Intensywność koloru czerwonego prążka w polu testowym jest zależna od stężenia RSV w próbce i można spodziewać się większego natężenia w przypadku większych ilości RSV.

KONTROLA JAKOŚCI

Test został wyposażony w wewnętrzną kontrolę jakości. Zielony prążek, który musi pojawić się w polu kontrolnym C, aby test był ważny, potwierdza wzięcie do oznaczenia odpowiedniej ilości próbki, oraz prawidłową procedurę testu.

Test zawiera także zewnętrzną kontrolę pozytywną, której zastosowanie jest zalecane dla sprawdzenia funkcjonalności i czystości odczynników oraz prawidłowego działania testu.

OGRANICZENIA METODY

1. Test należy przeprowadzić w przeciągu 2 godzin od wyjęcia kasetki z opakowania.
2. CerTest RSV Card powinien być wykorzystywany do badania wyłącznie próbek wymazów z nosa, popłuczyn z nosogardzieli i aspiratów z układu oddechowego. Badania innych próbek klinicznych (surowica, płwocina, mocz etc.) czy próbek środowiskowych (woda) nie zostały zwalidowane.
3. Intensywność prążka testowego może się wahać w zależności od stężenia antygenu od bardzo silnej do ledwo widocznej.
4. Pozytywny wynik testu potwierdza obecność antygenu RSV w próbce pacjenta. Potwierdzenie infekcji i wydanie diagnozy zawsze powinno być jednak wykonane przez lekarza w oparciu o wyniki kilku badań oraz obserwacje kliniczne.
5. Wynik Negatywny nie wyklucza zakażenia RSV, świadczy jedynie o tym że stężenie antygenu RSV w próbce pacjenta jest poniżej limitu detekcji testu. W przypadku objawów należy wykonać dodatkowe badanie metodami PCR, lub hodowli komórkowej.

WARTOŚCI SPODZIEWANE

Wirus RSV jest wiodącym czynnikiem odpowiedzialnym za konieczność nagłej pomocy i hospitalizacji pacjentów z infekcją dolnych dróg oddechowych (LRTI) u młodych dzieci i niemowląt na całym świecie.

U osób dorosłych i starszych, a także u zdrowych dzieci, objawy infekcji RSV są umiarkowane i zwykle przypominają klasyczne przeziębienie. W takich przypadkach samoopieka zazwyczaj wystarcza by przyspieszyć i zakończyć chorobę.

Infekcja RSV może być w niektórych jednak przypadkach ostra, co szczególnie dotyczy dzieci i niemowląt cierpiących na inne problemy zdrowotne. Również ostre stany odnotowuje się w niektórych przypadkach u osób starszych, a także osób dorosłych cierpiących na choroby serca i płuc, a także tych o osłabionym układzie odpornościowym. Dokładne informacje na temat chorobowości i zapadalności nie są aktualnie poznane ponieważ większość przypadków kończy swoją diagnozę na lekarzach pierwszego kontaktu. Infekcje adenowirusem są częste i uznaje się, że stanowią od 2 do 5 % wszystkich infekcji układu oddechowego. Zimą, infekcje wywołane przez typy 4 i 7 są również odnotowywane w środowiskach wojskowych gdzie ok. 25 % przypadków wymaga hospitalizacji ze względu na gorączkę i objawy zakażenia dróg oddechowych.

PARAMETRY

Czułość i swoistość diagnostyczna

Czułość diagnostyczna testu CerTest RSV Card została sprawdzona w porównaniu do testu immunochromatograficznego (BinaxNOW® RSV, Alere). Wyniki podsumowano w tabeli niżej:

		BinaxNOW® RSV, Alere	
		+	-
Test immunochromatograficzny CerTest RSV Card	+	18	0
	-	1	10
Czułość		95,0 %	
Swoistość		> 99,0 %	
PPV		> 99,0 %	
NPV		91,0 %	



CERTEST RSV
Jednostopniowy test kasetkowy do wykrywania antygenu RSV

Reaktywność krzyżowa

Sprawdzono i wykazano brak reaktywności krzyżowej testu CerTest RSV Card dla poniższych patogenów układu oddechowego:

Influenza typ A

Influenza typ B

Adenovirus

BIBLIGRAFIA

1. ANN R. FALSEY and EDWARD E. WALSH. "Respiratory Syncytial Infection in Adults", *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, Vol. 13, No.3, p. 371-384
2. DIANE C. HALSTEAD, SANDRA TODD, and GALE FRITCH; "Evaluation of Five Methods for Respiratory Syncytial Virus Detection" *Journal of Clinical Microbiology*, May 1990, Vol. 28, No. 5; p. 1021-1025.

IU-RV820001PC rev 05 Revision 05