



CERTEST Rotavirus+Adenovirus
Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygenu rotawirusa i adenowirusa

CERTEST Rotavirus + Adenovirus

Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygenu rotawirusa i adenowirusa

CERTEST BIOTEC S.L.





CERTEST Rotavirus+Adenovirus

Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygeny rotawirusa i adenowirusa

PRZEZNACZENIE

CerTest Rotavirus+Adenovirus Card jest, jednostopniowym testem immunochromatograficznym do jednoczesnego, jakościowego wykrywania antygeny rotawirusa i adenowirusa w próbkach kału.

CerTest Rotavirus+Adenovirus Card oferuje szybki i łatwy w wykonaniu przesiew mający na celu wstępną diagnozę infekcji rotawirusami i adenowirusami.

INFORMACJE OGÓLNE

Rotawirusy i adenowirusy to główne czynniki chorobotwórcze odpowiedzialne za infekcje układu pokarmowego u noworodków, oraz małych dzieci, a także u dorosłych. Są one przenoszone na drodze fekalno – oralnej. Głównymi objawami zakażenia są biegunka oraz wymioty. Zakażona osoba może również odczuwać bóle głowy, gorączkę oraz ból brzucha. Zazwyczaj objawy można zaobserwować w ciągu 1 lub 2 dni od zakażenia i mogą one utrzymywać się od 1 do 10 dni w zależności od rodzaju wirusa (rotawirus 3 dni, adenowirus 5 – 8 dni).

ZASADA TESTU

CerTest Rotavirus+Adenovirus Card jest jakościowym, immunochromatograficznym testem do wykrywania antygeny rotawirusa i/lub adenowirusa w próbkach kału. Membrana testu została pokryta w rejonie testowym mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw rotawirusowi, oraz przeciwciałami przeciw adenowirusowi.

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

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

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

W przypadku próbki negatywnej, antygeny rotawirusa i/lub adenowirusa 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 % azotku 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 kału powinny być pobierane do czystego pojemnika, a pomiar powinien być wykonany jak najszybciej. Można próbki przechowywać w lodówce (2-8°C) przez 1-2 dni. W celu dłuższego przechowywania należy próbkę zamrozić w -20°C. W tym przypadku przed użyciem próbkę należy całkowicie rozmrozić i sprowadzić do temperatury pokojowej.

Przygotowanie próbki kału:

- (1) Odkręcić nasadkę (1) i użyć załączonego patyczka (aplikatora) do pobrania próbki (2) (najlepiej ok. 125 mg dla próbki stałej, lub 125 µl próbki ciekłej). Pobierać poprzez zanurzenie patyczka w przynajmniej czterech różnych miejscach. W przypadku próbek ciekłych użyć mikropipety.
- (2) Zamknąć aplikator na powrót w probówce i wymieszać zawartość wytrząsając energicznie w celu całkowitego rozpuszczenia próbki w buforze. (3)



Probówka na próbkę



(1) Odkręcić nasadkę z patyczkiem



(2) Pobrać próbkę



(3) Wytrząsać próbkę w probówce

SKŁADNIKI ZESTAWU

- 20 kasetek pakowanych osobno,
- 20 probówek z aplikatorami i buforem do rozcieńczeń,
- instrukcja dla użytkownika.
- kontrola pozytywna (tylko w zestawie XR882001VC)

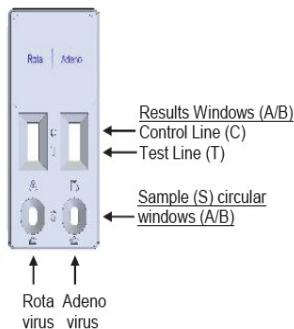
WYMAGANE MATERIAŁY NIEDOŁĄCZONE

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

PROCEDURA TESTU

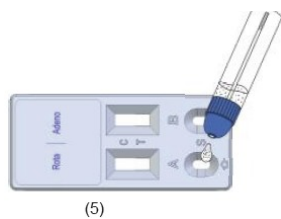
Przed użyciem próbek, sprowadzić kasetki do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Kasetki należy wyjąć z opakowań przed samym rozpoczęciem procedury.

- 1) Kontynuować mieszanie próbki w probówce z aplikatorem by osiągnąć jej pełną dyspersję. Odciać końcówkę probówki (4).
- 2) Wyjąć kasetkę z opakowania.
- 3) Zakropić 4 krople rozcieńczonej próbki do okrągłego okienka A na membranie A (5) i 4 krople rozcieńczonej próbki do okrągłego okienka B na membranie B (6). Nie dodawać do okienek stałych cząstek.
- 4) Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy. Nie odczytywać wyników po upływie dłuższego czasu.



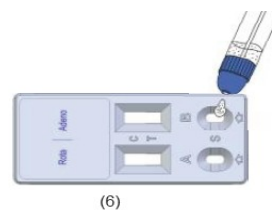
Procedura rotawirusa membrana A

Dodać 4 krople do okrągłego okienka A



Procedura adenowirusa membrana B

Dodać 4 krople do okrągłego okienka B



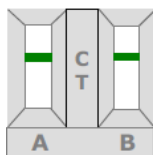
PROCEDURA KONTROLI POZYTYWNEJ (tylko w zestawie XR882001VC)

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

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

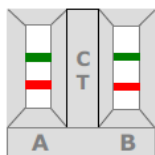
- 1) Dodać do załączonej probówki testowej 15 kropli odczynnika do kontroli pozytywnej (czerwona nakrętka) i natychmiast wprowadzić wymazówkę do środka. Stosować osobne probówki z odczynnikami do osobnych wymazówek.
- 2) Mieszać wymazówką roztwór silnie dociskając ją do ścianek probówki testowej przez 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 na odpowiedniej (w zależności od pozytywnego parametru) membranie. Nie dodawać do okienek stałych cząstek.
- 5) Odczytać wynik po 10 minutach od zakończenia analizy. Nie odczytywać wyników po upływie dłuższego czasu.

OCENA I INTERPRETACJA WYNIKÓW



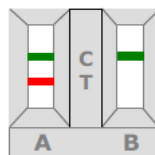
Membrana A: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność rotawirusa

Membrana B: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność adenowirusa



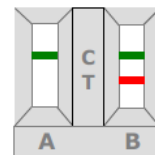
Membrana A: Zielony i czerwony prążek – Wynik pozytywny na obecność rotawirusa

Membrana B: Zielony i czerwony prążek – Wynik pozytywny na obecność adenowirusa



Membrana A: Zielony i czerwony prążek – Wynik pozytywny na obecność rotawirusa

Membrana B: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność adenowirusa



Membrana A: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność rotawirusa

Membrana B: Zielony i czerwony prążek – Wynik pozytywny na obecność adenowirusa

WYNIK NIEWAŻNY: Nie pojawił się żaden prążek w polu kontrolnym C. 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.



CERTEST Rotavirus+Adenovirus
Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygenu rotawirusa i adenowirusa

UWAGI DO INTERPRETACJI WYNIKÓW

Intensywność koloru czerwonego prążka w polu testowym jest zależna od stężenia antygenu w próbce i można spodziewać się większego natężenia w przypadku większych ilości antygenu. Nie można jednak przy użyciu poniższego testu, wyznaczać jakichkolwiek wyników ilościowych, ani zależności w zmianach stężenia antygenu.

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.

OGRANICZENIA METODY

1. Test należy przeprowadzić w przeciągu 2 godzin od wyjęcia kasetki z opakowania.
2. Nadwyżka próbki może spowodować zafałszowanie wyniku w postaci zabarwienia obszaru testowego.
3. Intensywność prążków testowych może się wahać od bardzo silnej do ledwo widocznej.
4. Ilość wirusów wraz z trwaniem infekcji maleje. Należy pobierać i badać próbki w przeciągu tygodnia od początku infekcji.
5. CerTest Rotavirus+Adenovirus Card jest zwalidowany wyłącznie dla próbek ludzkiego kału. Nie sprawdzano innych próbek. Jakość wyniku jest wprost proporcjonalna do jakości próbki. Stosować zwalidowane i sprawdzone metody pobierania i przechowywania próbki.
6. Ponieważ zawartość antygenu może być zbyt mała, wynik negatywny nie powinien być rozumiany jako brak obecności antygenu w próbce. W przypadku potwierdzonych objawów zaleca się wykonanie oznaczenia z próbki hodowanej na pożywce.
7. Test zapewnia jedynie diagnostyczne narzędzie do jakościowego stwierdzenia obecności antygenu rotawirusa i adenowirusa. Wynik pozytywny otrzymany tym testem powinien być potwierdzony innymi technikami laboratoryjnymi (biochemicznymi, serologicznymi, lub molekularnymi), a ostateczne stwierdzenie pozytywnego wyniku powinno być wykonane przez lekarza tylko w połączeniu ze wszystkimi dostępnymi wskazaniami klinicznymi.

WARTOŚCI SPODZIEWANE

Ostre zapalenie układu pokarmowego jest stosunkowo częstym schorzeniem u młodych dzieci, a związane z nim odwodnienie jest głównym powodem hospitalizacji w krajach rozwiniętych. Ostra biegunka jest jednym z głównych problemów zdrowotnych na całym świecie i jedną z głównych przyczyn zgonów w krajach rozwijających się. Jako przyczynę tych schorzeń najczęściej rozpoznaje się wirusy i obecnie uznaje się, że 4 ich grupy mają największe znaczenie kliniczne: rotawirusy, norowirusy, adenowirusy i astrowirusy. Niektóre badania podkreślają istotność wieloinfekcji wirusowych jak przyczynę ostrych biegunek (46 %).

PARAMETRY

Czułość i swoistość diagnostyczna

Czułość i swoistość diagnostyczna testu CerTest Rotavirus+Adenovirus Card została sprawdzona w przypadku rotawirusów w porównaniu do testu ELISA (RIDASCREEN Rotavirus, R-Biopharm), a w przypadku adenowirusów do testu PCR. Wyniki podsumowano w tabeli niżej:

		RIDASCREEN Rotavirus, R-Biopharm	
		+	-
Test immunochromatograficzny CerTest Rotavirus+Adenovirus (rotawirusy)	+	18	1
	-	0	43
Czułość		> 99,0 %	
Swoistość		98,0 %	
PPV		> 94,0 %	
NPV		> 99,0 %	

		PCR	
		+	-
Test immunochromatograficzny CerTest Rotavirus+Adenovirus (adenowirusy)	+	7	0
	-	0	52
Czułość		> 99,0 %	
Swoistość		> 99,0 %	
PPV		> 99,0 %	
NPV		> 99,0 %	

Reaktywność krzyżowa

Sprawdzono i wykazano brak reaktywności krzyżowej testu CerTest Rotavirus+Adenovirus Card dla poniższych patogenów:

Adenovirus (Rotavirus line)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhimurium</i>
Astrovirus	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Norovirus	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Rotavirus (Adenovirus line)	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Enterovirus	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>



CERTEST Rotavirus+Adenovirus
Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygeny rotawirusa i adenowirusa

BIBLIGRAFIA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", Microbiological Reviews, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179.
2. ESTES, M. K. and COHEN, J.; "Rotavirus Gene Structure and Function", Microbiological Reviews, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449.
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850.
4. CUKOR, G.,PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 19, 888-892.
5. NEEL K. KRISHNA, B.A, "Identification of Structural Domains Involved in Astrovirus Capsid Biology", Viral Immunol. 2005 ; 18(1): 17-26.
6. BON, F. et al. "Prevalence of group A Rotavirus, human calicivirus, Astrovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France." J. Clin. Microbiol. 37 No 9 3055-3058 (1999).

IU-XR882001V rev 00 Revision 00