

Rota-Adeno Test

Szybki test immunochromatograficzny do wykrywania rotawirusów i/lub adenowirusów w kale

REF HXRAT10

REF HXRAT20

REF HXRAT25

WSTĘP

Rotawirusy są najczęstszą przyczyną ostrego zapalenia żołądka i jelit, zwłaszcza w przypadku małych dzieci. Wirus przenosi się drogą pokarmową, powoduje wymioty i biegunkę, jest najczęstszą przyczyną ostrej biegunki u dzieci. Atakuje i niszczy enterocyty wyścielające jelito cienkie, powodując wirusowe zakażenie przewodu pokarmowego, często nazywane "grypą żołądkową", mimo, że nie ma związku z gripą. Czas inkubacji, od momentu przedostania się wirusa do organizmu, do pojawienia się pierwszych objawów, wynosi około 2 dni. Pierwszym objawem są zwykle wymioty, po których następuje biegunka, trwająca od 4 do 8 dni. Rotawirusowe zapalenie żołądka i jelit może prowadzić nawet do zgonu w przypadku dzieci, osób starszych i chorych z obniżoną odpornością. W klimacie umiarkowanym infekcje wywołane rotawirusem występują głównie w miesiącach zimowych. Prawie każde dziecko na świecie w wieku do 5 lat przeszło co najmniej jedną infekcję, spowodowaną przez rotawirusy. U dzieci hospitalizowanych z powodu zapalenia żołądka i jelit rotawirusy są wykrywane w około 50%.

Adenowirusy mogą powodować ostre zapalenie gardła, gorączkę gardłowo-spojówkową (APTT), zapalenie oskrzeli oraz zapalenie płuc. Ok. 5% ostrych zapaleń układu oddechowego u dzieci poniżej 5 roku życia jest powiązana z infekcją adenowirusa. Znaczenie adenowirusów w schorzeniach układu pokarmowego przez dłuższy czas było pomijane. Od tego czasu jednak udało się wyhodować szczepy adenowirusów powodujące zapalenie układu pokarmowego. Okazało się, że w 4 – 14% próbek pobranych od dzieci z ostrym zapaleniem, wystąpiły antygeny adenowirusa. Adenowirusy są drugą w kolejności po rotawirusach przyczyną wirusowych schorzeń układu pokarmowego. W literaturze opisane są przypadki epidemii spowodowane jelitowymi szczepami adenowirusa.

Szybkie i precyzyjne wykrywanie rotawirusów i adenowirusów jest bardzo ważne w celu ustalenia etiologii zapalenia żołądka i jelit oraz związanego z tym postępowania z pacjentem.

ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Rota-Adeno Test jest szybkim, jakościowym, jednostopniowym testem do wykrywania rotawirusów i adenowirusów w próbce kału. Zasada działania testu oparta jest na metodzie immunochromatograficznej. Na pasku membrany w strefie testowej T zostały unieruchomione przeciwciała skierowane przeciwko rotawirusowi i adenowirusowi. W początkowym odcinku paska testowego naniesiono koniugat złota koloidalnego i przeciwciał anty-rotawirus oraz koniugat złota koloidalnego i przeciwciał anty-adenowirus. Wykonanie oznaczenia polega na wyekstrahowaniu antygenów patogenu z badanej próbki i nakropleniu ekstraktu na płytkę testową. Antygen rotawirusa i/lub adenowirusa wiąże się z odpowiednim koniugatem złota koloidalnego i przeciwciał, i tworzy się kompleks antygen-przeciwciała. Następnie ekstrakt przemieszcza się siłami kapilarnymi do unieruchomionych przeciwciał skierowanych przeciwko rotawirusowi i adenowirusowi w strefie testowej T. Jeśli w próbce występuje odpowiednia ilość rotawirusa, powstaje barwny kompleks przeciwciała - antygen rotawirusa - koniugat przeciwciała i tworzy się barwny prążek testowy R. Podobnie, jeśli w próbce występuje odpowiednia ilość adenowirusa, powstaje barwny kompleks przeciwciała - antygen adenowirusa - koniugat przeciwciała i tworzy się barwny prążek testowy A. Brak barwnych prążków w strefie testowej świadczy o nieobecności rotawirusa i adenowirusa w badanej próbce. Ekstrakt przemieszcza się dalej wzdłuż płytki i w strefie kontrolnej tworzy się barwny prążek kontrolny C. Obecność tego prążka świadczy o prawidłowym wykonaniu i działaniu testu oraz o dobrej jakości odczynników.

SKŁAD I PRZECHOWYWANIE ZESTAWU

Zestaw zawiera:

	REF HXRAT10 10 testów	REF HXRAT20 20 testów	REF HXRAT25 25 testów
1. Płytki testowe, każda zapakowana w osobną kopertkę z pipetką i środkiem suszącym	10 szt.	20 szt.	25 szt.
2. Probówki z aplikatorem do pobierania próbek kału, zawierające bufor ekstrakcyjny	10 szt.	20 szt.	25 szt.
3. Instrukcja używania wyrobu	1 szt.	1 szt.	1 szt.

Zestaw Rota-Adeno Test należy przechowywać w temperaturze 2–30°C do daty ważności podanej na opakowaniu.

Płytki testowe powinny pozostać w kopertce do momentu wykonania badania.

Nie zamrażać.

Należy chronić składniki testu przed zanieczyszczeniem. Nie należy używać odczynników skażonych mikrobiologicznie lub ze strąkami. Zanieczyszczenie biologiczne przyrządów dozujących, pojemników i odczynników może prowadzić do wyników fałszywych.

SPRZĘT WYMAGANY DODATKOWO

✓ Pojemniki do pobierania próbek

✓ Czasomierz

✓ Wirówka

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Test służy tylko do użytku profesjonalnego do diagnostyki *in vitro*.
- Nie używać testu po terminie ważności. Nie używać testu, jeśli kopertka ochronna jest zniszczona. Nie używać testu powtórnie.
- Zestaw zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowane pochodzenie i/lub stan sanitarny zwierząt nie gwarantują w zupełności braku czynników chorobotwórczych. Dlatego zaleca się traktować te produkty jako potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi przestrzegając zwykłych środków ostrożności (nie polykać i nie wdychać).
- Unikać wzajemnego zanieczyszczenia próbek.
- Przed wykonaniem oznaczenia należy dokładnie zapoznać się z instrukcją.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w pomieszczeniach, w których wykonywane są oznaczenia. Wszystkie próbki powinny być traktowane jak potencjalnie zakaźne. Zachować odpowiednie środki ostrożności przy pobieraniu, przechowywaniu i pozbywaniu się próbek i składników zestawu. Podczas pracy używać ubrania ochronnego, takiego jak fartuch laboratoryjny i jednorazowe rękawice.
- Bufor ekstrakcyjny zawiera azydek sodu który może reagować z ołowiem lub miedzią tworząc potencjalnie wybuchowe azydki. Podczas usuwania roztworu należy spuścić go dużą ilością wody, aby uniknąć powstania azydków.
- Nie mieszać składników zestawów z różnych serii.
- Wilgoć i niewłaściwa temperatura mają wpływ na wynik testu.
- Zużyte materiały należy usunąć zgodnie z zasadami usuwania odpadów obowiązującymi w laboratorium.

POBIERANIE I PRZECHOWYWANIE PRÓBEK

- Rota-Adeno Test jest przeznaczony do wykonywania oznaczeń tylko z próbek ludzkiego kału.
- Największą wykrywalność wirusów w kale obserwuje się na początku występowania objawów infekcji. U pacjentów z zapaleniem żołądka największe wydalanie rotawirusów z kałem przypada na 3-5 dni po wystąpieniu objawów. W przypadku pobrania próbek kału po dłuższym czasie od wystąpienia biegunki, ilość antygeny w próbce może być niewystarczająca do otrzymania wyniku dodatniego lub wykryte antygeny mogą zostać niepowiązane z biegunką.
- Przy wykonywaniu badania niniejszym testem nie jest wymagane stosowanie specjalnej diety.
- Badanie należy wykonać zaraz po pobraniu próbki. Nie należy pozostawiać próbek w temperaturze pokojowej przez dłuższy czas. Probki kału można przechować do 72 godzin w temperaturze 2–8°C.
- Przed wykonaniem oznaczenia temperaturę próbek doprowadzić do temperatury pokojowej.
- Jeśli próbki są przeznaczone do wysłania, należy je zapakować zgodnie z obowiązującymi przepisami dotyczącymi transportu czynników etiologicznych.

WYKONANIE OZNACZENIA

Przed wykonaniem oznaczenia należy doprowadzić temperaturę testu, próbek, buforu i/lub kontroli do temperatury pokojowej (15–30°C). Najlepsze wyniki uzyskuje się, gdy oznaczenie będzie wykonane w ciągu 6 godzin od pobrania próbki kału.

1. Pobranie i przygotowanie próbki do badania

Dla próbki stałej

- Odkręcić nakrętkę z aplikatorem w górnej części pojemnika i za pomocą aplikatora pobrać materiał z co najmniej 3 różnych miejsc.
- Unikać nadmiaru badanego materiału na aplikatorze.
- Wprowadzić z powrotem aplikator z pobraną próbką (ok. 50 mg) do pojemnika z roztworem ekstrakcyjnym i szczelnie zakręcić.
- Zwrócić uwagę, aby niechcący nie odłamać końcówki znajdującej się w nakrętce.
- Energicznie wytrząsając zawartość pojemnika, wymieszać badaną próbkę z roztworem ekstrakcyjnym.
- Tak przygotowaną próbkę należy oznaczyć w ciągu 1 godziny lub można przechować do 6 miesięcy w temperaturze –20°C.

Dla próbki płynnej

- Odkręcić nakrętkę z aplikatorem w górnej części pojemnika z roztworem ekstrakcyjnym.
- Przy użyciu pipetki dostarczonej w zestawie pobrać płynną próbkę i wprowadzić 2 krople (ok. 50 µl) do próbki z roztworem ekstrakcyjnym.
- Wprowadzić z powrotem aplikator do pojemnika z roztworem ekstrakcyjnym i szczelnie zakręcić.
- Zwrócić uwagę, aby niechcący nie odłamać końcówki znajdującej się w nakrętce.
- Energicznie wytrząsając zawartość pojemnika, wymieszać badaną próbkę z roztworem ekstrakcyjnym.
- Tak przygotowaną próbkę należy oznaczyć w ciągu 1 godziny lub można przechować do 6 miesięcy w temperaturze –20°C.

2. Wykonanie testu:

- Wyjąć płytkę testową z aluminiowej kopertki (po jej rozdarciu) i umieścić na poziomej powierzchni. Opisać płytkę nazwiskiem pacjenta lub numerem identyfikacyjnym. Badanie powinno być wykonane w ciągu 1 godziny.
- Trzymając pojemnik w pozycji pionowej odłamać końcówkę w nakrętce pojemnika. Następnie odwrócić pojemnik do góry dnem i ściskając jego ścianki wprowadzić **2 pełne krople** roztworu ekstrakcyjnego do okienka S na płytce testowej. Unikać powstania pęcherzyków powietrza. Zwrócić uwagę, aby roztwór ekstrakcyjny nie dostał się do okienka wynikowego.

3. Odczytać wynik w czasie **10 minut**. Nie interpretować wyniku po czasie 20 minut.

UWAGA:

Jeśli próbka wprowadzona do okienka S nie migruje wzdłuż paska testowego, należy odwirować wyekstrahowaną próbkę znajdującą się w pojemniku z roztworem ekstrakcyjnym, a następnie pobrać 80 µl supernatantu i wprowadzić do okienka S na nowej płytce testowej.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wynik dodatni dla rotawirusa: pojawiają się 2 wyraźne prążki: jeden w strefie kontrolnej (C) i drugi w strefie testowej rotawirusa (R).

Wynik dodatni dla adenowirusa: pojawiają się 2 wyraźne prążki: jeden w strefie kontrolnej (C) i drugi w strefie testowej adenowirusa (A).

Wynik dodatni dla rotawirusa i adenowirusa: pojawiają się 3 wyraźne prążki: jeden w strefie kontrolnej (C), drugi w strefie testowej rotawirusa (R) i trzeci w strefie testowej adenowirusa (A).

Wynik ujemny: pojawia się tylko 1 prążek w strefie kontrolnej (C), brak prążka testowego (R lub A).

Wynik nieważny: brak prążka kontrolnego. W takim przypadku wynik testu uważa się za nieważny. Należy powtórzyć oznaczenie z zastosowaniem nowej płytki testowej.

UWAGA:

- Intensywność zabarwienia prążka testowego R lub A może być różna w zależności od stężenia analitu obecnego w próbce. Jednakże jakiegokolwiek ślad prążka testowego R lub A wskazuje na dodatni wynik testu.
Należy pamiętać, że Rota-Adeno Test jest jedynie testem jakościowym i nie można przy jego pomocy określić stężenia analitu w próbce.
- Najczęstszą przyczyną braku prążka kontrolnego C jest niewystarczająca objętość próbki, niedokładne wykonanie oznaczenia lub przeterminowany test.

OGRANICZENIA

- Rota-Adeno Test jest przeznaczony do użytku profesjonalnego, do diagnostyki *in vitro* i może być stosowany tylko do jakościowego wykrywania rotawirusa i adenowirusa w kale.
- Tak, jak w przypadku innych, szybkich testów diagnostycznych, ostateczna diagnoza powinna być postawiona w oparciu o inne wyniki badań laboratoryjnych i historię choroby pacjenta.
- W przypadku otrzymania ujemnego wyniku i utrzymujących się objawów klinicznych zaleca się dalszą diagnostykę z użyciem innych metod klinicznych. Wynik ujemny nie wyklucza możliwości występowania infekcji z niskim stężeniem rotawirusa lub adenowirusa.

CHARAKTERYSTYKA OZNACZENIA

Tabela: Rota-Adeno Test w porównaniu z metodą ELISA.

		Rota-Adeno Test (rotawirus)		
		+	-	Razem
Rotavirus ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
Razem		79	163	242

Względna czułość: 96,3%

Względna swoistość: 100%

Całkowita zgodność: 98,8%

		Rota-Adeno Test (adenowirus)		
		+	-	Razem
Adenovirus ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
Razem		82	128	210

Względna czułość: 98,8%

Względna swoistość: 100%

Całkowita zgodność: 99,5%

LITERATURA

- Wong SS. Strategic utilization of cardiac markers for diagnosis of acute myocardial infarction. Ann Clin Lab Sci, 26:301-12, 1996.
- Kagen LJ. Myoglobin methods and diagnostic uses. CRC Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., 2:273, 1978.
- Chapelle JP. et al. Serum myoglobin determinations in the assessment of acute myocardial infarction. Eur. Heart Journal, 3:122, 1982.
- Apple FS, Preese LM. Creatine kinase-MB: detection of myocardial infarction and monitoring reperfusion. J Clin Immunoassay, 17:24-9, 1994.
- Lee TH, Goldman L. Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction. Ann Intern Med, 105:221-233, 1986.
- Kallner A, Sylven C, Brodin U, et al. Early diagnosis of acute myocardial infarction; a comparison between chemical predictors. Scand J Clin Lab Invest, 49:633-9, 1989.
- Adams, et al. Biochemical markers of myocardial injury. Immunoassay Circulation 88: 750-763, 1993.
- Mehegan JP, Tobacman LS. Cooperative interaction between troponin molecules bound to the cardiac thin filament. J.Biol.Chem. 266:966, 1991.



HydreX Diagnostics Sp. z o.o. Aleja Stanów Zjednoczonych 61A, 04-028 Warszawa, tel./fax: 22 673 13 60, 61

Data opracowania ulotki: 20.07.2022

Wyjaśnienie użytych symboli

	Numer katalogowy		Przechowywać w temperaturze		Tylko do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Przeczytaj instrukcję stosowania		Nr serii		Wytwórca
	Data ważności		Tylko do jednorazowego użytku		Liczba testów w zestawie