



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.



PRZEZNACZENIE

CerTest Rotavirus+Adenovirus Card jest, jednostopniowym testem immunochromatograficznym do jednoczesnego, jakościowego wykrywania antygenu 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 antygenu 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. Dotarłszy do rejonu próbkowego z opłaszczonymi przeciwciałami reagują z nimi wytwarzając barwne czerwone prążki. Na membranie A powstanie barwny czerwony prążek z kompleksów antygenu rotawirusa, monoklonalnych przeciwciał i czerwonego polistyrenu, a na membranie B barwny czerwony prążek z kompleksów antygenu 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.

PRZECZYSZCZANIE I STABILNOŚĆ

Test należy przechowywać w temperaturze 2 – 30°C w oryginalnym opakowaniu i zużyć przed upłynięciem daty ważności. Po upłynięciu daty ważności producent nie gwarantuje poprawnego działania testu. Gwarancją nie są objęte również kasety, 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 kasety do dwóch różnych próbek.
- Po zużyciu, utylizować w sposób odpowiedni dla materiałów biologicznych.
- Odczynniki zawierają konserwant (<0,1 % azodyku 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 próbówce i wymieszać zawartość wytrząsając energicznie w celu całkowitego rozpuszczenia próbki w buforze. (3)



Próbkowa na próbkę



(1) Odkręcić nasadkę z patyczkiem



(2) Pobrać próbkę



(3) Wytrząsać próbkę w próbówce

SKŁADNIKI ZESTAWU

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

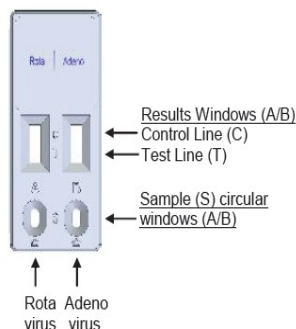
WYMAGANE MATERIAŁY NIEDOŁĄCZONE

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

PROCEDURA TESTU

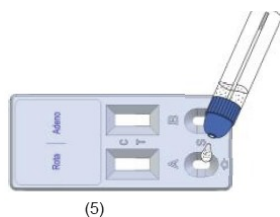
Przed użyciem próbek, sprowadzić kasetki do temperatury pokojowej (15 – 30°C). Kasetki należy wyjąć z opakowań przed samym rozpoczęciem procedury.

- 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.



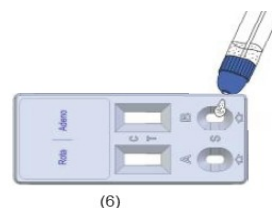
Procedura rotawirusa membrana A

Dodać 4 krople do okrągłego okienka A



Procedura adenowirusa membrana B

Dodać 4 krople do okrągłego okienka B



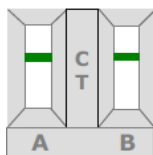
PROCEDURA KONTROLI POZYTYWNEJ (tylko w zestawie XR882001VC)

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.

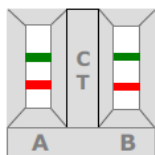
- 1) Dodać do załączonej probówki testowej 15 kropli odczynnika do kontroli pozytywnej (czerwona nakrętka) i natychmiast wprowadzić wymazówkę do środka. Stosować osobne probówki z odczynnikami do osobnych wymazówek.
- 2) Mieszać wymazówką roztwór silnie dociskając ją do ścianek probówki testowej przez 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



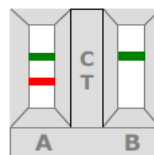
Membrana A: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność rotawirusa

Membrana B: Zielony prążek – Wynik negatywny na obecność adenowirusa



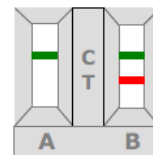
Membrana A: Zielony i czerwony prążek – Wynik pozytywny na obecność rotawirusa

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 kasety 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 Swoistość PPV NPV		> 99,0 % 98,0 % > 94,0 % > 99,0 %	

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

Reaktywność krzyżowa

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

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



CERTEST Rotavirus+Adenovirus

Jednostopniowy test kasetkowy do jednoczesnego wykrywania antygeny rotawirusa i adenowirusa

BIBLIOGRAFIA

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