CE

QuickStripe™ Adeno/Rota

Jednokrokový test pro stanovení adenovirových a rotavirových antigenů v lidské stolici.

Pracovní návod

Souprava pro 25 stanovení
(Katalogové č. 41207)
Pro in-vitro diagnostické účely.
Skladujte při 4-30°C. **Nezmrazujte.**

Dováží: **GALI spol. s r.o.**
Ke Stadionu 179, Semily 513 01
Tel. 481 689 050
Fax. 481 689 051
E-mail: info@gali.cz

Vyrábí: ***Savyon®* Diagnostics Ltd.**
3 Habosem St. Ashdod 77610
ISRAEL
Tel.: +972.8.8562920
Fax: +972.8.8523176
E-mail: support@savyondiagnostics.com

Použití

Rychlý screeningový imunochromatografický test pro stanovení antigenů adenovirů a rotavirů v lidské stolici. Test napomáhá při diagnóze infekcí způsobených adenoviry a rotaviry.

Úvod

Rotaviry
Rotaviry jsou hlavními etiologickými činiteli pediatrické gastroentritidy a průjmů. U dětí a mladých lidí mohou mít neléčené infekce za následek smrt z dehydratace způsobené snížením elektrolytů díky průjmům a zvracení (1). U 50% hospitalizovaných kojenců a malých dětí je důvodem průjmového onemocnění rotavirus (2). Rotaviry způsobená dehydratace je hlavním důvodem úmrtí kojenců jak ve vyspělých, tak v rozvojových zemích. (3).
Nejvyšší prevalence onemocnění je v mírném klimatu, během chladných měsíců v roce (4). V tropickém pásmu se rotavirová infekce může vyskytnout kdykoli během roku (2). Nejvíce náchylní k onemocnění jsou kojenci a děti (4).
Adenoviry
Náznaky adenovirů můžeme pozorovat u širokého okruhu klinických onemocnění, především respiračních, zrakových, a onemocnění gastrointestinálního systému u lidí (5,6). Některé sérotypy adenovirů jsou enterické a jsou hlavním zdrojem pediatrických gastroenteritid (7,8).
Diagnostika rotavirových a adenovirových gastroenteritid je založena na identifikaci virových částic ze stolice. Tyto částice se během infekce vyskytují ve velkém počtu, mohou být pozorovány v elektronovém mikroskopu (EM) nebo detekovány imunologickými metodami, například immunochromatograficky tak, jako v tomto Rota/Adeno testu.

Princip testu

QuickStripe Adeno/Rota test obsahuje dvě různé monoklonální protilátky (anti-rotavirus, anti-adenovirus), které jsou konjugovány s koloidálními zlatými částicemi. Králičí polyklonální protolátky jsou imobilizovány na testovacím proužku v zóně TEST. Pokud vzorek stolice obsahuje antigeny (adeno a/nebo rota) tvoří se komplexy antigen-protilátka se zlatými částicemi. Tento komplex migruje směrem k místu, kde se tvoří barevné pruhy a kde se odečítá pozitivita testu. Zbývající konjugát migruje směrem ke kontrole a tvoří růžově/purpurově zbarvené pruhy. To určuje správnost provedení testu.

Test obsahuje (25 stanovení)

- 25testovacích proužků pro stanovení adeno/rota virů
- 25zkumavek na vzorky, každá obsahuje 1ml ředícího pufru*
- 1plastový stojánek s víčkem
- 1návod

Opatření

1. Součásti kitu nepoužívejte po jejich expirační době.
2. Test je určen pro in vitro diagnostické stanovení, ne pro vnitřní či vnější užití na lidech či zvířatech.
3. Ve vzorcích může být přítomný infekční agens. Se všemi vzorky zacházejte jako s možným infekčním materiálem. Nikdy nepipetujte ústy a vyhýbejte se kontaktu s otevřeným poraněním.
4. Ředící roztok obsahuje azid sodný, který při kontaktu s kovy může tvořit výbušné sloučeniny. Reagencie po vylití do odpadu spláchněte velikým množstvím vody.
5. Nemíchejte reagencie různých kitů a různých šarží.
6. Nedodržení reakční teploty nebo času může být příčinou špatných výsledků.

Uchovávání a stabilita

Test musí být uchováván při teplotě 4-30°C. Stabilní je do doby uvedené na obalu. Proužky uchovávejte v uzavřeném sáčku.

Odběr vzorku

Vzorky stolice musí být odebírány do čistých, suchých kontejnerů, bez detergentů nebo telecího séra. Přibližně 0,1g (0,1ml) je dostatečné pro stanovení. Pro odběr mohou být použity i tampóny, v případě, že se odebere požadované množství vzorku. Vzorek by se měl odebírat 3-5 dní po objevení příznaků rotavirové infekce. Vzorky odebrané 8 dní a více po prvních symptomech nemusí obsahovat detekovatelné množství antigenu nebo virových částic (13,16).
Všechny vzorky uchovávejte v chladu až do doby provedení testu. Pokud vzorek netestujete během 48 hodin, musí se skladovat při –20°C. Vzorky opakovaně nerozmrazujte. Uchovávání v samo-rozmrazovacích lednicích se nedoporučuje. Naředěné vzorky po testování vyhoďte.

Pracovní postup

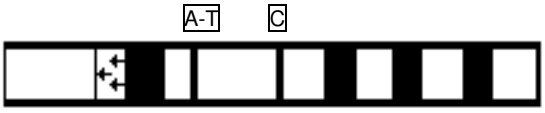
1. Otevřete zkumavku na vzorek.
2. Přidejte malou část vzorku stolice (asi 50mg). Zkumavku uzavřete.
3. Energicky zkumavku proklepejte, dokud se vzorek v tekutině zcela nerozpustí.
4. Počkejte, dokud si velké částice nesednou ke dnu.
5. Sripy vyndejte z obalu.
6. Popište je jmény nebo kódy pacientů. Testovací proužek vložte vertikálně (modrými šipkami směrem dolů) do testovací zkumavky s tekutinou.
7. Když tekutina dosáhne středu testovací zóny, proužek ze zkumavky vyjměte.
8. Vyjměte testovací proužek a položte na rovnou plochu.

Vyhodnocení testu

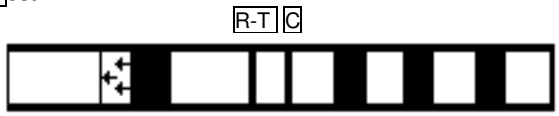
Po 5 minutách od vyndání proužku ze zkumavky odečítejte výsledek. Pokud je pozadí příliš silně zabarvené, počkejte ještě dalších 10 minut.
Negativní: objeví se pouze jeden růžovo-purpurový proužek v kontrolním okně. (Control window). Žádný viditelný proužek v testovacím okně (Test window).

C

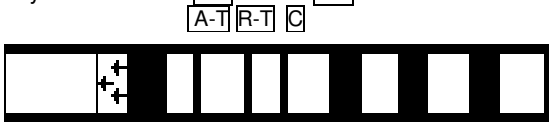
Adenovirus Positivní: mimo kontrolního proužku (Control band) je jasně viditelný růžovo-purpurový proužek také v okně A-Test.



Rotavirus Positivní: mimo kontrolního proužku (Control band) je jasně viditelný růžovo-purpurový proužek také v okně R-Test.



Adenovirus a Rotavirus Positivní: mimo kontrolního proužku (Control band) jsou jasně viditelné růžovo-purpurové proužky také v oknech A-Test and R-Test.



Neprokázaný výsledek:
Pokud se neobjeví pruhy v testovacím poli, ani v místě kontroly, musí být test opakován.

Kontrola kvality

Každý strip má zabudovanou procedurální kontrolu. Pokud byl test proveden správně, objeví se v oblasti kontroly zabarvený proužek. Správná laboratorní praxe doporučuje používat současně s testovanými vzorky kontrolní materiál, kontroly používáme vždy s novou šarží stripů. Pokud se kontrolní proužek nezabarví, test není validní.

Omezení testu

- Rotaviry a některé adenoviry způsobují gastroenteritidu. Tímto testem se nestanoví bakteriální gastroenteritida, je tedy vhodné zároveň použít i test pro stanovení bakteriálních průjmových patogenů ze vzorku stolice.

- Nepoužívejte vzorky, které obsahují konzervační prostředky nebo detergenty. Negativní výsledek nevylučuje přítomnost rotavirové nebo adenovirové infekce. Množství antigenu nebo viru může být příliš nízké. Příčinou může být i nedostatečné množství vzorku nebo nevhodný vzorek.

- Může se stát, že naředěný vzorek se difusí nedostane na strip. V takovém případě se 0,3 ml (asi polovina) naředěného vzorku přetáhne do nové zkumavky a test se opakuje s novým stripem.

Očekávané výsledky

Věk pacienta, geografická lokalizace, roční období, počasí a životní prostředí jsou faktory ovlivňující prevalenci rotavirovou a adenovirovou infekcí. V mírném klimatu je virová gastroenteritida častější v zimních měsících, méně častá je infekce během letních měsíců.

Charakteristiky

A. Klinické srovnání
Srovnáváme-li kit od firmy Savyon s ostatními komerčně dostupnými rychlými Adeno/Rota testy, docházíme ke 100% shodě u negativních vzorků, více než 97% shodě u pozitivních vzorků na rotaviry a více než 90% shodě u pozitivních vzorků na adenoviry.

B. Zkřížená reaktivita
Anti-rotavirové protilátky použité v tomto kitu nerozeznávají následující běžné střevní patogeny a viry, které se vyskytují ve stolici:

1) Adenovirus I, II	11) Polio virus I,II,III
2) Entamoeba histolytica	12) Salmonella B, C
3) Ascaris lumbricoides	13) Salmonella infantis
4) Campylobacter jejuni	14) Salmonella typhi
5) Vibrio cholerae	15) Shigella sonnei
6) Clostridium difficile	16) Shigella flexneri
7) Echo virus 3, 7	17) Shigella dysenteriae
8) Escherichia coli	18) Vibrio parahemolytica
9) Giardia lamblia	19) Trichuris trichiura
10) Picornavirus	20) Corona-like virus

Anti-adenovirové protilátky detekují rodově specifický hexon antigen, který se vyskytuje ve všech lidských sérotypech. Test nemůže být použitý k rozlišení sérotypů. Anti-adenovirové protilátky nevykazují zkříženou reaktivitu s žádným jiným běžným střevním patogenem (virem, bakterií nebo parazitem). Vzorek, který obsahuje kmen S.aureus produkující protein A může způsobit falešně pozitivní výsledek.

C. Reprodukovatelnost
10 negativních vzorků stolice, 10 vzorků pozitivních na rotaviry od nízké do vysoké hladiny pozitivity, a 10 vzorků pozitivních na adenoviry od nízké do vysoké hladiny pozitivity bylo testováno na přítomnost virových antigenů po 10 dní. Během opakovaného testování, stejných vzorků, nebyla pozorována žádná změna intenzity zabarvení.

D. Prozónový efekt
Koncentrovaný virový antigen byl připraven z buněčné kultury, která prokazovala 100% cytopatický efekt. Bylo testováno, zda koncentrace ovlivňuje stanovení. Získané výsledky byly srovnány s intenzitou proužku.

Rotavirus:

Antigenní ředění	1:1	1:2	1:4	1:10	1:20
Výsledek	++++	+++	+++	++	+

Adenovirus:

Antigenní ředění	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16
Výsledek	++++	+++	+++	++	+

Výsledek jasně ukazuje absenci prozónového efektu.

E. Citlivost:
Pozitivní vzorek o známé koncentraci částic antigenu byl naředěn pufrem, stanovovala se přítomnost virů. Nejnižší detekční limit QuickStripe Adeno/Rota testu je 1 x 10^6 virových částic na ml pro rotaviry a 3,4 x 10^6 virových částic na ml pro adenoviry .

Literatura

1. Cukor, G and Blacklow, NR. 1984. Microbiol. Rev. 48:157-179.
2. Kapikian, AZ, et al. in Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections, 5th Edition (Lennette, EH and Schmidt, NJ, editors). 1979. Am. Public Health Assoc., pp. 927-996.
3. Kapikian, AZ, et al. in Viral Infections of Humans, 2nd Edition (Evans, AS, editor). 1982. Plenum Books, pp. 283-326.
4. Barnett, B. 1982. Med. Clin. North Amer. 67:1031-1058.
5. Wadell, G. Adenoviruses in Principles and Practice of Clinical Virology (Zuckerman, AJ et al., editors). 1990. John Wiley and Sons, pp. 267-287.
6. Horowitz, MS. Adenoviral diseases in Virology (Fields, BN et al., editors). 1985. Raven Press, pp. 477-495.
7. Madeley, CR. 1986. Paediatric Infectious Diseases 5:563-574. Uhnoo, I et al. 1984. J. Clin. Microbiol. 20:365-372.

*Roztok k ředění obsahuje aditiva, za účelem omezení nespecifické interakce. Během stání se mohou vyskytnout bílé precipitace, toto je normální jev, precipitace se snadno odstraní proklepáním a nebo promícháním na vortex třepačce.

CE

European Authorized Representative: Obelis s.a.
Av. De Tervuren, 34bte 44, B-1040 Brussels
Tel: +32.2.732.59.54 Fax: +32.2.732.60.03
E-mail:mail@obelis.net Mobile: +32.475.45.46.60