



Autoryzowany przedstawiciel i dystrybutor  
Alpha Diagnostics Sp. z o.o.  
ul. Gabriela 2, 01-347 Warszawa  
Tel. (22) 631 40 13; fax (22) 632 42 11

Magazyn; Produkcja; Kontrola Jakości; Serwis  
ul. Stępińska 22/30, 00-739 Warszawa  
Tel. (22) 631 42 27; fax (22) 631 48 23  
e-mail: [ad@alphadiag.com.pl](mailto:ad@alphadiag.com.pl)  
[www.alphadiag.com.pl](http://www.alphadiag.com.pl)

## Combi-Strip (C-1004)

### Test immunochromatograficzny in vitro do wykrywania Rotawirusa i Adenowirusa w próbkach kału.

#### TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO

Numer katalogowy: C-1004, 25 testów w opakowaniu

#### I. WPROWADZENIE

Biegunka i zapalenia jelitowe u ludzi mogą być spowodowane przez wirusy (Rota-, Adeno-, Astro- i Norwalk wirusa), bakterie takie jak Salmonella czy E. Coli i pierwotniaki jak Cryptosporidium i Giardia. Wirusy powodują 45% biegunek u dzieci poniżej 1 roku i 40% biegunek u dzieci poniżej 4 roku życia.

Rotawirus jest wiodącą przyczyną zapaleń żołądkowo-jelitowych u dzieci ze wskaźnikiem rozpowszechniania choroby przekraczającym 50%.

Stawia go to tymczasowo na drugim miejscu wśród przyczyn występowania wirusowego zapalenia jelit u dzieci poniżej drugiego roku życia. Wirus jest przenoszony na drodze kontaktu fekalno-oralnego. Po około trzydniowym okresie inkubacji występuje gorączka, wymioty i biegunka, które to objawy mogą się utrzymywać do dziesięciu dni.

Rotawirus jest główną przyczyną śmiertelności wskutek odwodnienia w Krajach Trzeciego Świata. Jednakże pozostaje faktem, że również w krajach rozwiniętych stwierdza się przypadki ciężkich infekcji. Oszacowano, że w Stanach Zjednoczonych każdego roku 75 do 125 dzieci umiera z powodu infekcji wywołanych przez Rotawirusa. Z powodu swej wysokiej zaraźliwości rozpowszechnia się bardzo szybko wśród dziecięcych populacji, które stanowią grupy ryzyka dla tego rodzaju infekcji.

Częstość zakażenia Adenowirusem wynosi 4-12%. Do zakażenia dochodzi drogą fekalno-oralną, lecz może być również spowodowane wdychaniem aerozolu. Okres inkubacji trwa od 5 do 8 dni a symptomy żołądkowo-jelitowego zapalenia to wodnista biegunka, wymioty, gorączka i skurcze brzuszne.

Adenowirusy dzielą się na sześć podgrup oznakowanych od A do F. Większość przypadków zapalenia żołądkowo-jelitowego u dzieci wywołane jest przez podgrupę F wirusa. Test Combi-Strip wykrywa wszystkie grupy wirusów Rotawirusa i Adenovirusa.

#### II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu ze złotym koloidem. Próbkę kału muszą być rozcieńczone buforem, który jest dołączony do testu. Nitrocelulozowa membrana jest uczulona przeciwciałami skierowanymi przeciwko Rotawirusowi i Adenowirusowi. Specyficzność testu jest gwarantowana przez dwa monoklonalne przeciwciała, skierowane przeciwko antygenom grupy AVP6 ludzkiego Rotawirusa i antygenom swoistych białek ludzkiego Adenovirusa (Hexon), każdemu z osobna, które w połączeniu ze złotym koloidem tworzą stały konjugat na poliesterowej membranie.

Kiedy pasek zostaje zanurzony w zawieszynie kału, rozpuszczony mieszany konjugat wędruje z próbką przez powierzchnię membrany, gdzie wchodzi w kontakt z monoklonalnym przeciwciałem skierowanym bezpośrednio przeciwko swoistym białkom Adenovirusa. Jeśli próbka zawiera Adenovirusa, to kompleks konjugat-Adenovirus zatrzymuje się w miejscu, w którym na membranie umieszczone jest na stałe swoiste przeciwciało i tworzy się ciemnoczerwona linia. Intensywność jej zabarwienia zależy od miana przeciwciał wirusa w próbce. Roztwór kontynuując wędrowkę, napotyka anty-Rotawirus przeciwciało zaadsorbowane na nitrocelulozie. Jeśli próbka zawiera Rotawirusa, kompleks konjugat-Rotawirus zatrzymuje się w miejscu, gdzie na stałe umieszczone jest przeciwciało i na pasku pojawia się ciemnoczerwona linia, której intensywność jest określona mianem przeciwciał wirusa zawartych w próbce. Rezultat jest widoczny w ciągu 5-7 minut. Roztwór kontynuując wędrowkę, napotyka trzeci odczynnik (anty-mysie IgG) i wiąże nadmiar konjugatu, tworząc w ten sposób ciemnoczerwoną linię kontrolną, która pokazuje, że test działa prawidłowo.

#### III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera:

##### 1. Paski Combi-Strip (25)

Każdy pasek jest uczulony za pomocą poliklonalnej surowicy świnki morskiej skierowanej przeciwko Rotawirusowi, mysim monoklonalnym przeciwciałem skierowanym przeciwko antygenom Hexon grup A do F ludzkiego Adenovirusa, oraz kozią poliwalentną surowicą anti-mysie

IgG. Odczynniki oczyszczone przez chromatografię z powinowactwa na białku A lub G zostały zaadsorbowane na nitrocelulozie. Konjugat anty-Rotawirus utworzono przez użycie mysiego monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciw antygenom grupy AVP6 ludzkiego Rotawirusa, zaś konjugat anty-Adenovirus został wyprodukowany z użyciem mysiego monoklonalnego przeciwciała, które wykrywa antygeny A, B, C, D, E i F Adenovirusa. Odczynniki oczyszczone na białku G, zostały sprzężone z cząsteczkami złotego koloidu.

Paski umieszczone są w pojemniku z szaszetką pochłaniającą wilgoć.

##### 1. Roztwór buforu (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5 za pomocą Tris zawierający EDTA, Na<sub>2</sub>N<sub>3</sub> (<0.1%), detergent i naładowane białka.

##### Potrzebne materiały (nie dostarczone):

- 3 lub 5 ml próbówki testowe
- eza do pobierania próbek kału
- 

##### Materiały dostępne:

- Kontrola pozytywna Rotawirusa (Nr. kat.C-1081)
- Kontrola pozytywna Adenovirusa (Nr. kat. C-1082)

#### IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być spełnione i wykonane zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną.
- Test Combi-Strip jest przeznaczony tylko do użytku in vitro.
- Należy unikać dotykania obszarów testowych paska.
- Używać rękawiczek w czasie pobierania próbki.
- Powyższe zalecenia są zgodne z DPL.
- Nigdy nie należy używać odczynników pochodzących z różnych serii.
- Pojemnik z paskami musi być dokładnie zamknięty po każdym wyjęciu pasków do badania, ze względu na ich podatność na zawilgocenie. Należy się upewnić czy w środku znajduje się szaszetka pochłaniająca wilgoć.
- Dwie zielone linie wyznaczają miejsce adsorpcji przeciwciała. Znikają one w trakcie badania.
- Nie używać buforu gdy jest zanieczyszczony bakteryjnie lub pokryty pleśnią.
- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu użytkowania, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.

#### V. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw Combi-Strip przechowywany w temp. 4 - 37°C, jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, jeśli są przechowywane w temp. 4 - 37°C i suchym otoczeniu, zachowują trwałość przez 15 tygodni.

Zestawu Combi-Strip nie wolno zamrażać.

#### VI. PRÓBKİ

Próbki kału muszą być badane jak najszybciej po ich zebraniu. Jeśli testu nie wykonujemy od razu, próbki można przechować w temp. 2 - 8°C przez 24 godziny, a przy dłuższym przechowywaniu zamrozić do -20°C. Należy się upewnić, że próbki nie były poddane działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.

#### VII. WYKONANIE

##### Przygotowanie:

Jeśli zestaw Combi-Strip był trzymany w temp. 4°C, należy przed rozpoczęciem badania doprowadzić wszystkie odczynniki do temperatury pokojowej. Napisać nazwisko pacjenta lub numer próbki na probówce testowej (zaplanować po jednej probówce na próbce). Umieścić oznakowane próbówki w statywie.

##### Wykonanie:

1. Odmierzyć 0.5 ml czyli 15 kropli roztworu buforu do każdej próbówki.
2. Zanurzyć w probówce eżę zawierającą próbkę kału. Roztwór powinien być najwyżej 4% w/v, co równie jest wielkości dwóch 10 µL porcji próbki (małe ziarenko ryżu).
3. Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesziny i pozostawić na 1-2 minut.
4. Usunąć eżę i zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez czerwoną strzałkę.
5. Inkubować 5-10 minut. Maksymalny czas reakcji - 15 minut.

**Próbki mocno pozytywne będą wykrywane w ciągu 1-3 minut.**

Aby uniknąć rozpuszczenia koloidalnego złotego konjugatu w roztworze, należy uważać, by nie zanurzyć paska powyżej linii umiejscowionej pod czerwoną strzałką.

### VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

- 1 górna linia = test negatywny
- 2 lub 3 linie = test pozytywny
- brak linii = test nieważny\*

3 linie ukazują się w przypadku infekcji Rotawirus /Adenowirus

\* Brak górnej linii, która jest linią kontrolną, dyskwalifikuje wynik testu. W takim przypadku badanie należy powtórzyć.

W celu przechowania wyników pozostawić pasek do wyschnięcia na jego podłożu, po usunięciu nadmiaru materiału gromadzącego się na dole paska. Po wysuszeniu, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień.

### IX. KONTROLA JAKOŚCI

Zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną zalecane jest regularne sprawdzanie jakości testu, dostosowując je do laboratoryjnych wymagań. Do tego celu służy kontrola pozytywna Rota-Strip (C-1081) i Adeno-Strip (C-1082), w której paski powinny być zanurzone. Każdą kontrolę pozytywną, po rozpuszczeniu w 2 ml wody destylowanej, należy przed użyciem rozcieńczyć czterokrotnie buforem.

#### Sposób postępowania z każdą kontrolą pozytywną:

1. Do próbki wlać 0.5 ml rozcieńzonego roztworu kontroli pozytywnej
2. Zanurzyć pasek w kierunku wyznaczonym przez strzałki.
3. Inkubować 5-10 minut, maksymalnie do 15 minut.

Aby uniknąć rozpuszczenia koloidalnego złotego konjugatu w roztworze, należy uważać, by nie zanurzyć paska powyżej linii umiejscowionej pod strzałkami.

Muszą się ukazać dwie linie, potwierdzające pozytywny wynik. W celu przechowania wyników pozostawić pasek do wyschnięcia na jego podłożu, po usunięciu nadmiaru materiału gromadzącego się na dole paska. Po wysuszeniu, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień.

### X. CHARAKTERYSTYKA TESTU

#### A. Czulość – Specyficzność (Korelacja):

Wykonane zostały dwa opracowania, w których wyniki testu Combi-Strip porównano z dwoma odpowiednimi testami ELISA (jeden dla Rotawirusa, drugi dla grupy Adenowirusa). Czulość i specyficzność testu Combi-Strip była badana na 120 i 130 próbkach kału. Wyniki przedstawiają się następująco:

ELISA Rota	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek Combi			
Wyniki pozytywne	60	5	65
Wyniki negatywne	0	55	55
Wyniki końcowe	60	60	120

Czulość dla Rotawirusa = 100% (60/60)

Specyficzność dla Rotawirusa = 91.7% (55/60)

Pewność (Zgodność) = 95.83% (115/120)

(Ilość próbek = 120)

ELISA Adeno	Wyniki pozytywne	Wyniki negatywne	Wyniki końcowe
Pasek Combi			
Wyniki pozytywne	12	0	12
Wyniki negatywne	0	118	118
Wyniki końcowe	12	118	130

Czulość dla Adenowirusa = 100% (12/12)

Specyficzność dla Adenowirusa = 100% (118/118)

Pewność (Zgodność) = 100% (130/130)

(Ilość próbek = 130)

#### B. Dokładność:

##### Wewnątrz serii:

Ta sama pozytywna próbka zawierająca Rotawirusa i Adenowirusa była badana piętnastokrotnie na tej samej serii zestawów Combi-Strip.

Roztwór buforu był testowany piętnastokrotnie, równolegle z pozytywnymi próbkami.

Uzyskane wyniki wykazały 100% poprawność.

Wszystkie piętnaście testów przebadanych na pozytywnej dla Rotawirusa i Adenowirusa próbce, rozcieńczonej 1/48, dało wynik dodatni, w postaci dwóch kolorowych linii.

Wszystkie piętnaście testów przebadanego roztworu buforu było negatywne, poprzez ukazanie się jednej kolorowej linii (linia kontrolna).

##### Między-seriami:

Ta sama pozytywna próbka zawierająca Rotawirusa i Adenowirusa była testowana trzykrotnie, na dziewięciu różnych seriach zestawów Combi-Strip.

Roztwór buforu był testowany trzykrotnie, równolegle z pozytywnymi próbkami.

Uzyskane wyniki wykazały 100% poprawność.

We wszystkich dziewięciu seriach zestawów Combi-Strip przebadanej pozytywnej próbki, rozcieńczonej 1/48 uzyskano wyniki dodatnie, oraz ujemne - dla roztworu buforu w każdym z testów.

#### C. Ograniczenia wykrywania:

Próg wykrywalności dla Rotawirusa i Adenowirusa ustalono na poziomie 64-krotnego rozcieńczenia (buforem) liofilizowanej pozytywnej kontroli, referencyjnej dla kultur Rotawirusa i Adenowirusa, która z testem ELISA daje jeszcze dodatni wynik.

#### D. Interakcje:

Nie stwierdzono oddziaływania na wyniki następujących czynników patogennych:

- *Acinetobacter lwoffii* (n = 1)
- *Campylobacter jejuni* (n = 1)
- *Giardia lamblia* (n = 1)
- *Aeromonas hydrophila* (n = 1)
- *E. Coli* 0157; H7 (n = 1)
- *Salmonella typhimurium* (n = 1)
- *Salmonella enteritidis* (n = 1)
- *Enterobacter cloacae* (n = 1)
- *Klebsiella pneumoniae* (n = 1)
- *Proteus mirabilis* (n = 1)
- *Pseudomonas aeruginosa* (n = 1)
- *Serratia marescens* (n = 1)
- *Shigella flexneri* (n = 1)
- *Stenotrophomonas maltophilia* (n = 1)
- *Yersinia enterocolitica* (n = 1)
- *Cryptosporidium parvum* (n = 1)

#### X. OGRANICZENIA

Wyniki testów Combi-Strip muszą być porównywane z innymi dostępnymi klinicznymi objawami i laboratoryjnymi informacjami. Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Test Combi-Strip jest skriningowym testem ostrej fazy. Próbki kału zebrane po jej zakończeniu mogą mieć miana antygeny poniżej progu wykrywalności testu.

#### Producent:

Coris BioConcept  
 Science Park - CREALYS  
 Rue Phocas Lejeune, 30 bte 9  
 B - 5032 GEMBLOUX  
 BELGIUM  
 Tel : +32(0)81.719.917  
 Fax : +32(0)81.719.919  
 Email: info@corisbio.com  
<http://www.corisbio.com>

EC numer rejestracyjny: BE/CA02/003

Ref: Fo-7.5-54/Rev: 02 02-2003

Wydanie instrukcji: Kwiecień 2005

Aktualizacja: 01.04.2007

NOT-5404/02