

GastroVir-Strip^{color} CE

Szybki test do diagnostyki *in vitro* do wykrywania Rotawirusów i Adenowirusów odpowiedzialnych za gastroenteritis (serotyp 40/41)

DO DIAGNOSTYKI IN VITRO

Numer katalogowy: C-1016, 25 testów PL
C-1516 10 pojedynczo pakowanych testów wraz z zestawem do pobierania próbek
C-1216 20 pojedynczo pakowanych testów

I. WPROWADZENIE.

Zapalenie żołądka i jelit u ludzi może być spowodowane przez wirusy (Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Calcivirus, etc), przez bakterie, takie jak Salmonella i pierwotniaki *C. parvum* i *G. lamblia*.

U dzieci poniżej 4 roku życia wirusy są przyczyną 40% przypadków. Pośród nich rotawirusy są głównym czynnikiem etiologicznym (45% przypadków). Corocznie rotawirusy powodują około 111 milionów zachorowań wymagających tylko pomocy doraźnej i 25 milionów przypadków wymagających pomocy specjalistycznej, 2 miliony hospitalizacji i 440 000 zgonów u dzieci poniżej 5 roku życia. Do 5 roku życia prawie każde dziecko przechodzi rotawirusowe zapalenie żołądka i jelit, 1 na 5 musi być leczone przez specjalistę, 1 na 65 jest hospitalizowane i około 1 na 293 umiera. (CDC, maj 2003)⁷

Wydaje się, że jelitowy Adenovirus (EAd) jest drugim co do częstotliwości i powoduje od 5% do 20% zachorowań. Chociaż niejelitowe adenowirusy (NEAd) są wykrywane w kale, to serotypy 40 i 41 subgenotyp F (EAd) są dominujące (30 do 80% wszystkich wykrywanych adenowirusów) i wygląda na to, że są głównym czynnikiem zapalenia jelit. Serotypy 40 i 41 są wykrywane w kale wyłącznie u chorych, podczas gdy NEAd wykrywa się zarówno u chorych jak i w grupie kontrolnej. Ponadto większość serotypów niejelitowych wykrywanych w kale to serotypy znane z tego, że są odpowiedzialne za infekcje dróg oddechowych (serotypy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7) i nie ma doniesień o tym, żeby powodowały gastroenteritis (serotypy 12, 18).¹⁻²⁻³⁻⁴⁻⁵⁻⁶

Rotawirus jest przenoszony drogą fekalno – oralną. Po około 3 dniowym okresie inkubacyjnym występuje wysoka gorączka, wymioty i biegunka, która może utrzymywać się do 10 dni. Infekcje adenowirusami mogą być przenoszone drogą fekalno - oralną jak również drogą kropelkową. Okres inkubacyjny trwa od 5 do 8 dni. Głównymi objawami są wodnista biegunka, wymioty, gorączka i skurcze żołądka.

GastroVir-Strip^{color} wykrywa wszystkie rotawirusy grupy A i adenowirusy podgrupy F (serotypy 40 i 41).

II. ZASADA DZIAŁANIA TESTU

Jest to gotowy do użytku test oparty na immunochromatografii z użyciem mikrocząsteczek lateksu. Próbkę kału musi być rozcieńczona dołączonym do testu buforem. Nitrocelulozowa membrana uczulona została przeciwciałami przeciwko rota- i adenowirusom. Test zawiera dwa przeciwciała monoklonalne: przeciwko specyficznemu białku ludzkiego Rotawirusa Grupy A VP6 i specyficznemu białku ludzkiego Adenovirusa serotyp 40/41, które są połączone z mikrocząsteczkami lateksu. Związek ten jest umieszczony na poliestrowej membranie.

Po zanurzeniu paska w zawieszynie kału rozpuszczony koniugat poprzez bierną dyfuzję wędruje z próbką i dochodzi do kontaktu koniugatu i próbki z monoklonalnymi przeciwciałami przeciwko specyficznemu białkom adenowirusów. Jeżeli próbka zawiera adenowirusy 40/41, związek koniugat-adenowirus w budowie się w monoklonalne przeciwciała zaadsorbowane na membranie i tworzy się czerwona linia. Roztwór migruje dalej i napotyka zaadsorbowaną na membranie surowicę anti-rotawirusową. Jeżeli w próbce znajdują się rotawirusy, to związek koniugat-rotawirus łączy się z surowicą i tworzy się niebieska linia. Odczyt pojawia się w przeciągu 10 minut. Roztwór przesuwa się dalej do trzeciego odczynnika (kontrolnego), tworząc zieloną linię kontrolną, która potwierdza prawidłowość działania testu.

III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera paski GastroVir^{color}, HC bufor rozcieńczający oraz dodatkowe wyposażenie (w zestawie C-1516)

1. GastroVir-Strip^{color} paski (25 X)

Każdy pasek został uczulony poliwalentnymi mysimi przeciwciałami przeciwko antygenowi VP6 rotawirusów, mysimi przeciwciałami monoklonalnymi przeciwko antygenowi Hexon adenowirusów i kozimi przeciwciałami przeciwko kurzemu IgY.

Koniugat anti-rotawirus został sporządzony z mysich monoklonalnych przeciwciał, koniugat anti-adenowirus sporządzono z mysich monoklonalnych przeciwciał przeciwko Adenovirusom grupy F (serotyp 40/41).

Koniugat kontrolny przygotowano z kurzego IgY.

Paski dostarczane są w pojemniku lub jednostkowym opakowaniu z pochłaniaczem wilgoci.

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. Stepińska 22/30, 00 - 739 Warszawa
Tel. (22) 631 42 27; fax (22) 631 48 23
e-mail: ad@alphadiag.com.pl
www.alphadiag.com.pl

2. Rozcieńczalnik (15 ml)

Roztwór soli fizjologicznej zbuforowanej do pH 7.5 buforem Tris z dodatkiem EDTA, Na₃ (<0,1%), detergentu i odpowiednich białek.

Wyposażenie niezbędne do wykonania badania a nie dostarczony w zestawie:

- 3 lub 5 ml próbówka
- eza do pobrania materiału

3. Instrukcja używania 1x

4. Wyposażenie niezbędne do wykonania testu (dostarczane w zestawie C-1516)

- 3 lub 5 ml próbówka
- eza do pobrania materiału

IV. SPECJALNE ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności przy wykonywaniu testu powinny być zgodne z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.
 - GastroVir-Strip^{color} jest przeznaczony tylko do diagnostyki *in vitro*.
 - Nie należy dotykać paska nitrocelulozowego palcami.
 - Podczas pracy z próbkami należy zakładać rękawiczki.
 - Unieszkodliwić rękawice, waciki, próbówki i użyte paski zgodnie z GLP.
 - Nie używać odczynników z różnych zestawów.
 - Jeżeli paski są przechowywane w pojemniku, to pojemnik należy zamknąć natychmiast po wyjęciu potrzebnej ich ilości, gdyż paski są wrażliwe na zawilgocenie. Należy się upewnić, że pochłaniacz wilgoci znajduje się w pojemniku.
 - Jeżeli paski są indywidualnie pakowane, to przy otwieraniu należy uważać, aby nie uszkodzić paska.
 - Trzy zielone linie wskazują miejsca zaadsorbowania przeciwciał. Znikają podczas wykonywania testu.
 - Jeżeli bufor zostanie zanieczyszczony bakteriami lub pleśniami należy go zniszczyć.
 - Nie gwarantuje się prawidłowego działania odczynników po upływie daty ważności, lub jeżeli są przechowywane w nieodpowiednich warunkach.
- Aby zapobiec rozpuszczeniu się koniugatu w roztworze, należy zwracać uwagę, aby zanurzyć pasek tylko do linii umieszczonej pod strzałkami.**

V. PRZECHOWYWANIE

Przed otwarciem GastroVir może być przechowywany w temperaturze pomiędzy 4 a 30°C.

Paski można używać 15 tygodni po otwarciu jeżeli są przechowywane w suchym środowisku w temperaturze pomiędzy 4 a 30°C.

Trwają badania nad pełną stabilnością testu. Aktualne dane na ten temat są dostępne u producenta.

GastroVir-Strip^{color} nie wolno zamrażać.

VI. PRÓBKİ

Próbkę kału należy zbadać jak najszybciej po pobraniu. Jeżeli to konieczne, to próbkę można przechowywać 24 godziny w temp. 2-8°C lub dłużej po zamrożeniu do -20°C.

Należy się upewnić, że próbka nie była poddana działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.

VII. WYKONANIE TESTU

Przygotowanie:

Jeżeli GastroVir-Strip^{color} jest przechowywany w temp. 4°C, należy odczynnik doprowadzić do temperatury pokojowej.

Próbkę należy opisać nazwiskiem pacjenta lub numerem identyfikacyjnym (przygotować jedną próbówkę na jednego pacjenta).

Umieścić próbówkę w statywie.

Procedura:

1. Do każdej próbówki nalać 0.5 ml lub 1.5 ml kropli rozcieńczalnika.
2. Dodać jedną eżę materiału badanego do próbówki. **Rozcieńczenie materiału powinno wynosić najwyżej 4% co odpowiada objętości dwu 10 µl eżę próbki płynnej lub jednej 10 µl eżę próbki stałej.**
3. Wymieszać, aby uzyskać jednorodną zawieszinę i pozostawić na 1-2 minuty.
4. Umieścić eżę w pojemniku na odpady. Zanurzyć pasek w zawieszynie zgodnie z kierunkiem wskazanym przez czerwone strzałki.
5. Pozostawić na 10 minut.
6. **Wynik należy odczytać na wilgotnym pasku.**

VIII. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki należy interpretować następująco:

- Jedna zielona linia = ujemny**
- Jedna zielona linia i jedna niebieska linia = Rotawirus**
- Jedna zielona linia i jedna czerwona linia = Adenowirus**
- Brak linii = test nie może być interpretowany***

Zielona, niebieska i czerwona linia pojawiają się w przypadkach infekcji mieszanych Rota- i Adeno- 40/41.

* Brak linii kontrolnej (górną zieloną linią) oznacza, że test jest nieprawidłowy. W tym przypadku test należy powtórzyć.

Intensywność zabarwienia linii testowej może być proporcjonalna do ilości antygeny w próbce. Nawet najdelikatniejsza linia testowa musi być interpretowana jako wynik dodatni. Test jest testem jakościowym i nie wskazuje na ilość antygeny w próbce. Przy stawianiu diagnozy należy brać pod uwagę objawy kliniczne i wyniki innych testów.

Podczas wysychania pasków może pojawić się niewielkie zacienienie na linii testowej. Nie należy go traktować jako wynik dodatni.

W celu zachowania wyników należy pasek wysuszyć. Po wysuszeniu mogą powstać delikatne cienie w miejscu linii testowych.

IX. KONTROLA JAKOŚCI

Zgodnie z Dobrą Praktyką Laboratoryjną zaleca się kontrolę prawidłowości działania testu zgodnie z wymaganiami laboratorium.

X. OCENA DZIAŁANIA

A. Czulość-Specyficzność (Korelacja)

Rotawirus

1°) Zestaw został zwalidowany na 214 próbkach kału poprzez porównanie z metodą EIA w trzech ośrodkach (Francja)

EIA	Dodatnie	Ujemne	Wszystkie
GastroVir-Strip ^{color} (rota)			
Dodatnie	104	0	104
Ujemne	2	108	110
Wszystkie	106	108	214

Czulość: 98.1 % Wyniki Prawdziwie Dodatnie: 100 %
 Specyficzność: 100 % Wyniki Prawdziwie Ujemne: 98.2 %

Adenowirus

Zestaw został zwalidowany poprzez porównanie z mikroskopią na 148 próbkach kału. Wyniki pozytywne potwierdzono metodą EIA.

mikroskopia	Dodatnie	Ujemne	Wszystkie
GastroVir-Strip ^{color} (40/41 Adeno)			
Dodatnie	11	0	11
Ujemne	0	137	137
Wszystkie	11	137	148

Czulość: 100 % Wyniki Prawdziwie Dodatnie: 100 %
 Specyficzność: 100 % Wyniki Prawdziwie Ujemne: 100 %

B. Powtarzalność i odtwarzalność

Aby sprawdzić powtarzalność wewnątrz serii jedna próbka rota- dodatnia i jedna próbka adeno 40/41 dodatnia oraz rozcieńczalnik (jako próbka ujemna) były 15-krotnie przebadane na paskach tej samej serii w identycznych warunkach. Wszystkie wyniki były podobne do spodziewanych.

Aby sprawdzić powtarzalność między seriami (dodatnia próbka Rota, dodatnia próbka Adeno 40/41 i rozcieńczalnik) zostały przebadane na 3 różnych numerach serii. Wszystkie wyniki były podobne do spodziewanych.

C. Interferencje

Reakcja krzyżowa z próbkami zawierającymi następujące patogeny została sprawdzona: *Enterovirus*, *Rhinovirus*, *HSV*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *Haemophilus influenzae*, *H.pylori*, *Cryptosporidium parvum*, *Giardia lamblia*, *E. coli* K99, *E.coli* (ATCC 25922, ATCC 35150), *Coronavirus*.

XI. OGRANICZENIA TESTU

Wyniki GastroVir-Strip^{color} muszą być porównane ze wszystkimi dostępnymi klinicznymi i laboratoryjnymi informacjami.

Dodatni wynik testu nie wyklucza możliwości zakażenia innymi patogenami.

GastroVir-Strip^{color} jest testem ostrej fazy. Próbki kału zebrane po okresie ostrej fazy mogą zawierać antygeny w stężeniach poniżej progu wykrywalności tym testem.

XII. PROBLEMY TECHNICZNE

Jeżeli wystąpią problemy techniczne lub wyniki będą inne niż opisano w tej instrukcji to należy:

- Zapisać numer serii zestawu
- Jeżeli to konieczne, to jak najszybciej zamrozić materiał, przy którym wystąpił problem;
- Skontaktować się z Coris BioConcept lub jego lokalnym dystrybutorem.

XIII. BIBLIOGRAFIA

1. **Infectious diseases** (3d edition), chapter 229: Sherwood L. Gorbach, John G. Barlett, Neil R. Blacklow
2. **Clinical virology** (2d edition), chapter 25 : Douglas D. Richman, Richard J. Whitley, and Frederick G. Hayden
3. **Importance of Rotavirus and Adenovirus Type 40 and 41 in acute Gastroenteritis in Korean Children:** Kim Kuyng-hee et al. J Clin Microbiol, oct. 1990, p. 2279-2284
4. **Importance of enteric Adenovirus 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children:** Ingrid Uhnou et al, J Clin Microbiol, sept. 1984, p.365-372
5. **Chromatography paper strip sampling of enteric adenovirus type 40 and 41 positive stool specimens:** Kalina T Zlateva et al. Virology Journal 2005, 2:6
6. **Identification of Adenoviruses in faeces from patients with diarrhea at the hospitals for sick children,** London 1989-1992: J. Noel et al. J Med Vir 1994, 43:84-90
7. **Global illness and deaths caused by Rotavirus disease in children:** Umesh D. Parashar et al (CDC). Emerging Infectious Diseases, Vol.9, n°5, may 2003
8. **New immunochromatographic method for rapid detection of rotaviruses in stool samples compared with standard enzyme immunoassay and Agglutination techniques.** I. Wilhelmi et al. Eur. Jour. of Clin. Micro. & Inf. Dis., Oct 2001, p.741-743
9. **Evaluation du 40/41 Adeno-Strip quick test pur la recherche des Adenovirus entériques.** D. Piérard et al. IIIèmes Journées Francophones de Virologie, Paris, 19-20/04/2001
10. **Comparison of immunochromatographic test for the simultaneous detection of Rotavirus and Adenovirus in stools.** C. Depierreux et al. Journées Francophones de Virologie. Paris, France, Avril 2000
11. **Study of infectious intestinal disease in England-Microbiological Findings.** D.S. Tompkins and al. Commun. Dis. Public Health 1999:2108-2113

Aktualizacja: sierpień 2008

IFU-5716/EN Rev: 07

Instr.polska 05.2007

Producent:

Coris BioConcept
 Science Park CREALYS
 Rue Jean Sonet, 4 A
 B – 5032 GEMBLoux
 BELGIUM

Tel: +32(0)81.719.917
 Fax : +32(0)81.719.919
 E-mail : info@corisbio.com
<http://www.corisbio.com>

