

Influ-A Respi-Strip, Infla A-Respi-CIT



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

**Test immunochromatograficzny in vitro
do wykrywania wirusa Influenza A
w wydzielinie nosowo-gardłowej (wymaz, wyplukiwanie lub
aspirat).**

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
www.alphadiag.com.pl

TYLKO DO UŻYTKU IN VITRO

Numer katalogowy: C-1010, 25 testów w opakowaniu
C-1210, 20 testów pakowanych indywidualnie

I. WPROWADZENIE

Influenza jest wysoce zakaźną wirusową infekcją górnych dróg oddechowych, którą cechuje zmienność antygeny, sezonowość oraz wpływ na całą populację.

Z dwóch głównych typów (A i B) wirusów grypy, podtypy wirusów A różnicowane są przez zmienny antygen powierzchniowy glikoprotein hemaglutynacyjnych (H, 15 podtypów) i neuraminidazy (N, 9 podtypów). Wirusy z grupy A są najbardziej rozpowszechnione i wywołują większość poważnych epidemii.

Influenza może powodować wiele komplikacji takich jak bronchity czy zapalenie płuc, szczególnie u dzieci, starszych ludzi czy też u osób z chronicznymi chorobami układu oddechowego. Najczęściej jest to łagodna infekcja wirusowa przenoszona za pomocą wydzielin górnych dróg oddechowych poprzez kichanie czy kaszel. Jest wiele innych wirusowych infekcji naśladujących grype, co powoduje konieczność użycia testów laboratoryjnych w celu rozróżnienia jej wśród ostrych infekcji oddechowych. Nowe skuteczne metody wykrywania wirusa pojawiły się ok.1990r. lecz dają one efekty, jeśli będą zastosowane we wczesnym stadium choroby (przed upływem 48 h od wystąpienia objawów).

Do izolacji wirusa w celu diagnozowania grypy stosowana jest wciąż standardowa metoda, z około 100% czułością osiąganą po 3 dniach. Ochrona zdrowia pacjentów oraz zminimalizowanie kosztów leczenia powinny być w poważnym stopniu wskazaniem do stosowania szybkich, specyficznych i czułych dla wykrywania antygeny metod wykorzystujących nowe skuteczne sposoby wykrywania wirusa.

II. ZASADA METODY

Test ten jest gotowy do użycia i bazuje na zastosowaniu jednolitego immunochromatograficznego systemu ze złotym koloidem. Specyficzność testu jest gwarantowana przez monoklonalne przeciwciała, skierowane przeciwko antygenom A grypy. Nitrocelulozowa membrana uczulona jest przeciwciałami skierowanymi przeciwko antygenom A oddechowego wirusa grypy. Inne przeciwciała, połączeniu z cząsteczkami złota koloidalnego tworzy stały konjugat na poliestrowej membranie.

Test ten jest nakierowany na wykrywanie wirusa A grypy w wydzielinie z nosa i gardła lub kulturach nadsączkowych.

Kiedy pasek zostaje zanurzony w rozcieńczonym roztworze WGN (wydzielinie gardłowo-nosowej) lub roztworze kultur wirusa, rozpuszczony konjugat wędruje z próbką przez powierzchnię membrany, gdzie wchodzi w kontakt z anty-Influenza A monoclonalnym przeciwciałem zaadsorbowanym na nitrocelulozie. Jeśli próbka zawiera wirusa A grypy, kompleks konjugat-Influenza A będzie wiązał się z przeciwciałami anty-Influeza A zaadsorbowanymi na nitrocelulozie. Rezultat - w postaci czerwonej linii tworzącej się na pasku - pojawia się w ciągu 15 minut.

Roztwór kontynuując wędrować, napotyka odczynnik (poliklonalne anty-kurze IgY) i wiąże konjugat kontrolny, tworząc w ten sposób czerwoną linię kontrolną, potwierdzającą prawidłowe działanie testu.

III. ODCZYNNIKI I MATERIAŁY

Każdy zestaw zawiera:

1. Paski Infla- A Respi-Strip

Każdy pasek jest uczulony mysim anty-Influenza A monoclonalnym przeciwciałem oraz kozią surowicą anty-kurze IgY. Konjugat został utworzony z monoklonalnych przeciwciał skierowanych przeciw ludzkim antygenom A grypy i kurzych przeciwciał sprężonych z cząstkami złota koloidalnego. Konjugaty te wysuszone i umieszczono w dolnej części paska. Paski umieszczone są w pojemniku z saszetką pochłaniającą wilgoć.

2. Roztwór buforu (15 ml)

Roztwór soli buforowany do pH 7.5, zawierający EDTA, Na₃ (<0.1%), detergent i białka uzupełniające.

3. Instrukcja używania (1)

4. Potrzebne materiały (dostarczane z zestawem C-1510)

- 3 lub 5 ml próbki testowe
- pojemnik do zbierania próbek
- statyw

IV. ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

- Wszystkie czynności testu muszą być spełnione i wykonane zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Laboratoryjnej.
- Test Infla-A Respi-Strip jest przeznaczony tylko do diagnostyki in vitro.
- Należy unikać dotykania obszarów testowych paska.
- Używać rękawiczek w czasie pobierania próbek.
- Usuwać rękawiczki, wymazówki, próbki, użyte paski zgodnie 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 jest saszetka pochłaniająca wilgoć.
- Jeżeli paski przechowywane są w opakowaniach indywidualnych, należy otwierać je ostrożnie, by nie uszkodzić paska.
- Dwie zielone linie wyznaczają miejsce adsorpcji przeciwciała. Górna linia kontroluje przepływ, a dolna jest linią testu Infla-A. Znikają one w trakcie badania.
- Nie używać buforu zanieczyszczonego bakteryjnie lub pokrytego pleśnią.
- Jakość odczynników nie jest gwarantowana po przekroczeniu ich terminu ważności, lub gdy są niewłaściwie przechowywane.
- **Aby uniknąć rozcieńczenia konjugatu złota koloidalnego w roztworze, należy uważać, aby w czasie wykonywania badania nie zamoczył paska powyżej linii umieszczonej pod strzałkami.**

V. USUWANIE ODPADÓW

Każdy użytkownik jest odpowiedzialny za odpowiednie zagospodarowanie wytworzonych odpadów i musi mieć pewność, że są one usuwane zgodnie z obowiązującymi przepisami prawnymi.

VI. PRZECHOWYWANIE

Nie używany zestaw Infla-A Respi-Strip przechowywany w temp. 4 - 30°C, jest trwały do daty ważności podanej na opakowaniu.

Po otwarciu, paski przechowywane (w tubie) w temp. 4 - 30°C i suchym otoczeniu zachowują trwałość przez 15 tygodni.

Zestawu Infla-A Respi-Strip nie wolno zamrażać.

Trwają badania nad pełną długotrwałą stabilnością testu. Wyniki przejściowe są dostępne w CORIS-BioConcept.

VII. PRÓBKİ

Próbki do testowania należy pobrać i przygotować standardowymi metodami pozyskiwania wydzielin nosowo-gardłowej (wyplukiwanie, aspirat, wymaz).

- 1) Próbki z wydzieliną 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, lub przy dłuższym przechowywaniu, lecz nie dłużej niż 1 miesiąc, zamrozić do -20°C. Należy się upewnić, że próbki nie były poddane działaniu formaldehydu lub jego pochodnych.
- 2) Zabrania się używania do badania płwociny.
- 3) Aby test był prawidłowo wykonany, objętość próbki musi wynosić dokładnie 500 µl.

VIII. WYKONANIE

Przygotowanie:

Jeśli zestaw Infla-A Respi-Strip był przechowywany 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 próbkę). Umieścić oznakowane próbki w statywie.

PROCEDURA PRZYGOTOWANIA PRÓBKİ:

1. **Wydzielina z nosogardzieli (popłuczyny i/lub aspirat).** Zmieszać 0.25 ml płynnej próbki z 0.25 ml czyli 8 kroplami roztworu buforu w celu uzyskania dwukrotnego rozcieńczenia.
2. **Wymaz.** Wymaz można przechowywać w probówce z podłożem transportowym lub w pojemniku z żelem lub gąbką.
 - a- Jeżeli wymaz jest przechowywany w płynnym podłożu transportowym, należy wycisnąć go poprzez obtarcie jego powierzchni o ścianki próbki i następnie przygotować roztwór w sposób opisany w punkcie 1.
 - b- Jeżeli wymaz jest przechowywany w innym niż płynne podłożu, to należy umieścić go w probówce zawierającej minimum 0,5 ml soli fizjologicznej

lub wody destylowanej, zamieszać i wycisnąć wacik, obcierając go o ścianki próbówki. Następnie należy przygotować roztwór w sposób opisany w punkcie 1. Jeżeli jedyną drogą pobrania próbki jest zrobienie wymazu, zaleca się pobranie 3 wymazów od jednego pacjenta.

- Wymieszać do uzyskania homogennej zawiesiny.
- Zanurzyć uczulony pasek w kierunku wyznaczonym przez strzałki i pozostawić na 15 minut. Wyniki muszą być odczytane na mokrym pasku po upływie 15 minut inkubacji.

IX. INTERPRETACJA WYNIKÓW

Wyniki interpretowane są następująco:

- 1 górna linia = test ujemny**
- 2 linie = test dodatni**
- brak linii = test nieważny***

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

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

Wahania w intensywności zabarwienia linii kontrolnej są dopuszczalne. Po upływie 15 minut lub po wyschnięciu paska, żadna ukazująca się nowa linia nie powinna być brana pod uwagę.

W celu przechowania wykonanych testów należy wysuszyć pasek po usunięciu nadmiaru absorbentu, który zbiera się na dole paska.

Po wysuszeniu, wokół linii testowej może pojawić się słabo widoczny cień.

X. CHARAKTERYSTYKA TESTU

A. Limit wykrywalności:

Limit wykrywalności zbadano używając oznaczony ilościowo szczep wirusa Influenza A (strain H1N1) i określono na $7,2 \times 10^6$ vp/ml.

B. Czułość – Specyficzność (Korelacja)

C.

Działanie testu oceniono i sprawdzono na 113 mrożonych próbkach wymazów z WNG w porównaniu z techniką RT-PCR.

Ocenę tą została przeprowadzona na następujących próbkach: 3 próbki wymazów z WNG przechowywano w 2,5 mL podłoża transportowego i przygotowano do badania w sposób opisany w punkcie 2-a rozdziału VII

Kolejną ocenę przeprowadzono w Finlandii wykonując badania na 89 próbkach wobec TR-FIA (Time-Resolved Fluoro-Immunoassay)

RT-PCR	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Wyniki końcowe
Pasek Influ-A Respi			
Wyniki dodatnie	36	0	36
Wyniki ujemne	11	66	77
Wyniki końcowe	47	66	113

Czułość = 76,6%
Specyficzność = 100%

Przewidywane dodatnie wyniki = 100%
Przewidywane ujemne wyniki = 85,7%

TR-FIA	Wyniki dodatnie	Wyniki ujemne	Wyniki końcowe
Pasek Influ-A Respi			
Wyniki dodatnie	32	0	32
Wyniki ujemne	1	56	77
Wyniki końcowe	33	56	89

Czułość = 96,97%
Specyficzność = 100%

Przewidywane dodatnie wyniki = 100%
Przewidywane ujemne wyniki = 98,25%

C. Odtwarzalność

W celu zbadania precyzji wewnątrz serii, jedną dodatnią próbkę i bufor (jako ujemna próbka kontrolna) przebadano 15rotnie z użyciem pasków o tym samym numerze serii i w tych samych warunkach eksperymentu. Wszystkie wyniki były prawidłowe i zgodne z przewidywaniami.

Oceniając precyzję między seriami, te same próbki (materiał i bufor) przebadano z zastosowaniem pasków o trzech różnych numerach serii. Wszystkie wyniki były prawidłowe i zgodne z przewidywaniami.

D. Interakcje:

Nie stwierdzono oddziaływania na wyniki następujących czynników patogennych: Adenoviruses, HSV, Entereovirus, RSV, Influenza B, Rhinovirus, *Nocardia asteroides*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pyogenes*, *Aspergillus niger*, *Legionella pneumophila*, *Candida albicans*, *Haemophilus influenzae*.

Wykonano również test na reakcję krzyżową ze strony *Staphylococcus aureus* i stwierdzono, że występuje ona przy wysokich stężeniach tej bakterii (ok. 10^9 CFU/ml).

Próbek zawierających krew czy erytrocyty nie należy testować, ponieważ możemy uzyskać fałszywie dodatni wynik.

XI. OGRANICZENIA

Wyniki testu Inlu-A Respi-Strip muszą być porównane z innymi dostępnymi klinicznymi objawami i laboratoryjnymi informacjami. Pozytywny wynik testu nie wyklucza możliwości obecności innych patogenów.

Test Inlu-A Respi-Strip jest skринingowym testem ostrej fazy. Próbki WNG zebrane po jej zakończeniu mogą zawierać miana antygenów poniżej progu wykrywalności testu. Jeśli uzyskamy negatywny wynik pomimo zaobserwowanych objawów to w celu potwierdzenia prawidłowości wyniku powinny być użyte kultury bakteryjne.

Wydanie instrukcji: Październik 2008

IFU-5410/EN

Rev: 7

Wersja polska: 20.02.2009

01

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

E-mail: info@corisbio.com

http://www.corisbio.com

XII. PIŚMIENICTWO

1. Church, D. L., Davies, H.D. et al. (2002). "Clinical and economic evaluation of rapid influenza A virus in nursing homes in Calgary, Canada." Clin Infect Dis 34(6):790-5.







2. Cox, N.J. and Subbarao, K. (2000). "Global epidemiology of influenza; past and present" Annu rev Med 51: 407-21.

3. Hayden, F.G. and Palese, P. (2002). Influenza virus, pp.891-920, in: Clinical Virology. D. D. Richman, R. J. Whitley and F. G. Hayden, eds. Washington, ASM Press.

4. I. Renuart, P. Mertens and T. Leclipteux. 2002 "An immunochromatographic test for the detection of Influenza A virus." European Biotech Crossroads, October 2002, Lille France.

5. M. Lyncz. "Prospective evaluation of an optical immunoassay for detection of Influenza during the 1999-2000 seasons." Clinical Virology Laboratory, Fairview-University Medical Center, University of Minnesota, Minneapolis, MN.

6. P. Mertens, S. Degallaix, L. Denorme, C. Olungu, Th Leclipteux. 2002. "The Inf A/B TWO SIDED Respi-Strip, an innovative immunochromatographic device for detection of Influenza A and B viruses." MEDICA, November 2004, Dusseldorf, Germany.

REF	Numer kat.		Producent
IVD	do diagn. in vitro		Ograniczenia temperatury
	Wystarcza ilość testów	DIL SPE	Rozdzielanie próbek
	Zawiera instrukcję użytkownika		Nie używać powietrze
	Chroń przed wilgocią		Zdjąć przed
DIL AS	Badanie z rozdzieleniem	CONT NaN3	Zawiera azotek sodu