

ADENO RESPI – STRIP

Kód: C 1009, 25 testů v jednom balení

Imunochromatografický test pro rychlou diagnostiku antigenu Adenoviru v nasofaryngeálních výtěrech nebo buněčných supernatantech.

Pouze pro in vitro použití

Pouze pro profesionální použití

I. ÚVOD

Adenoviry (AV) jsou značně rozšířené patogeny člověka způsobující široké spektrum onemocnění. Vyvolávají nejčastěji 5 – 15 % relativně lehkých respiračních virových nemocí, oční infekce (konjunktivitidy), infekce gastrointestinálního a urogenitálního traktu (diareja, hemoragická cystitida).

Klinický obraz AV je rozmanitý, od asymptomatických nákaz po závažná, výjimečně i letální orgánová poškození. Respirační AV infekce se šíří kapénkově prostřednictvím aerosolu a navozuje silnou humorální a buněčnou imunitní odpověď. Adenoviry infikují horní cesty dýchací většiny dětí v raném věku. Vyvolávají nazofaryngitidu a kašel, u starších dětí a dospělých zejména faryngitidu a konjunktivitidu. Rozšíření na dolní cesty dýchací může způsobit pneumonii, ohrožující zvláště kojence, oslabené a imunokompromitované pacienty.

AV je středně velký neobalený virus o průměru 70 – 90 nm. Genom je tvořen lineární molekulou dvouvláknové DNA. Adenoviry zahrnují 49 endemicky rozšířených sérotypů (pro některé oblasti je typická prevalence určitých sérotypů). Pouze sérotypy 40 a 41 jsou odpovědné za gastroenterologické obtíže. Sérotypy 2, 3, 5 a 7 jsou nejběžnějšími infekčními agens.

II. PRINCIP TESTU

Test pro rychlou diagnostiku AV antigenu v nasofaryngeálních výtěrech nebo buněčných supernatantech je založen na homogenním imunochromatografickém systému. Na nitrocelulózové membráně jsou navázány specifické monoklonální protilátky proti AV hexonovému antigenu. Konjugát je imobilizován na polyesterové membráně.

Po ponoření stripu do nazofaryngeálního sekretu rozpuštěného v pufrovaném rozpouštědle nebo do tekutého extraktu z buněčné kultury rozpouštěný konjugát i vzorek migrují pasivní difúzí. Jsou-li ve vyšetřovaném materiálu přítomny antigeny AV, dochází při kontaktu s protilátkami proti AV adsorbovanými na stripu k vytvoření první červené linky. Komplex vzorek-konjugát pokračuje v migraci stripem, kde je navázána další složka systému – kozí sérum proti kuřecím IgY protilátkám. Přbytek konjugátu se na protilátku naváže a vytvoří druhou červenou linku. Jestliže chromatografická reakce proběhla správně, vznikne druhá linka i u negativních vzorků a potvrzuje validitu testu. Strip, na kterém se vytvoří obě červené linky je

hodnocen jako pozitivní na přítomnost AV antigenu ve vyšetřovaném vzorku.

III. REAGENCIE A MATERIÁLY

Adeno Respi-Strip obsahuje:

- 25 ks senzibilizovaných stripů
Každý strip je senzibilizován myšími monoklonálními protilátkami proti Adenoviru a kozím sérem proti kuřecím IgY protilátkám. Reagencie jsou purifikovány afinitní chromatografií a adsorbovány na nitrocelulózu. Anti-AV konjugát je připraven s myšími monoklonálními protilátkami přímo proti lidským Adenovirovým hexonovým antigenům. Tyto protilátky jsou purifikovány a konjugovány s částicemi koloidního zlata. Tento specifický anti-AV konjugát je smíchan s konjugátem obsahujícím kuřecí IgY protilátky., které reagují s kozím sérem navázaným na kontrolní lince.
Stripy jsou uloženy v lahvičce s desikantem.
- Ředící pufr (15ml)
Pufrovaný solný roztok pH 7,5, obsahující EDTA a NaN_3 (< 0,1%), detergent a doplněk proteinů.

Materiál potřebný k provedení testu, který není součástí diagnostika:

-3 – 5 ml zkumavky, mikropipeta

Adeno Respi Uni-Strip obsahuje:

- 25 ks senzibilizovaných stripů
Každý strip je senzibilizován myšími monoklonálními protilátkami proti Adenoviru a kozím sérem proti kuřecím IgY protilátkám. Reagencie jsou purifikovány afinitní chromatografií a adsorbovány na nitrocelulózu. Anti-AV konjugát je připraven s myšími monoklonálními protilátkami přímo proti lidským Adenovirovým hexonovým antigenům. Tyto protilátky jsou purifikovány a konjugovány s částicemi koloidního zlata. Tento specifický anti-AV konjugát je smíchan s konjugátem obsahujícím kuřecí IgY protilátky., které reagují s kozím sérem navázaným na kontrolní lince.
Stripy jsou uloženy v lahvičce s desikantem.
- Ředící pufr (15ml)
Pufrovaný solný roztok pH 7,5, obsahující EDTA a NaN_3 (< 0,1%), detergent a doplněk proteinů.

- c) Zkumavky (10ks)
- d) Jednorázové tampony pro odběr vzorku (10ks)
- e) Pipety (10ks)
- f) Stojánek na zkumavky (1ks)

Doporučený materiál:

Adenovirus - pozitivní kontrola (možno objednat pod katal. č. C-1082)

IV. PRACOVNÍ POSTUP

Příprava:

Pokud se Adeno Respi-Strip uchovává při teplotě 4 °C je potřeba před použitím reagencie vytemperovat na pokojovou teplotu.

Na zkumavky se napíší čísla vyšetřovaných vzorků.

Vzorky musí být vyšetřeny co nejdříve po doručení.

Je nezbytné je uchovávat při teplotě 2 – 8 °C 24 hodin, po delší dobu při -20 °C.

Vzorky se nemají upravovat roztoky obsahující formaldehyd nebo jeho deriváty.

Provedení:

1. Tekuté nasofaryngeální sektery nebo aspiráty: Jestliže testovaný vzorek je kapalina kape se do každé zkumavky 0,25 ml (nebo 8 kapek) ředícího pufru. Poměr ředění je 1 : 1.
2. Stěry: Stěry mohou být uchovávány buď v tubách obsahujících transportní médium nebo v zařízení s gelem či spongiózní hmotou.
 - a) Jestliže je stěr uchováván v tekutém transportním médiu, je možné ho tlakem o stěnu zkumavky vytřít a pokračovat bodem 1.
 - b) Jestliže je stěr uchováván v netekuté hmotě, je nutné ho přemístit do zkumavky obsahující minimálně 0,5 ml solného roztoku či destilované vody, rozmíchat a tampón se stěrem vymáčet o stěny zkumavky. Dále pokračovat bodem jedna.
3. Do zkumavek s ředícím pufrem se přidá 0,25 ml vyšetřovaných vzorků.
4. Zkumavky se důkladně protřepou.
5. Pro kontrolu kvality je vhodné používat AV pozitivní kontrolní antigen (C-1082). Neředí se, do zkumavky se kape 0,25 ml. Extrakční pufr se nepoužívá!!!
6. Diagnostický strip se do zkumavek ponoří směrem vyznačeným šipkou.
(Aby nedošlo k rozpouštění koloidních částic z zlata v ředícím pufru, nesmí se strip ponořit hlouběji než po čárku vyznačenou pod šipkami !!!)
7. Reakce proběhne během 15 maximálně 20 minut.

V. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky jsou interpretovány následovně:

1 linka = negativní

2 linky = pozitivní

0 linka = nelze hodnotit*

* Absence kontrolní linky - výsledek je neplatný. Test je nutno opakovat.

Pro uchování výsledků se stripy usuší. Po vysušení jsou zřetelné velmi jemné linky.

Intenzita testovacích linek je závislá na kvantitě antigenních struktur ve vzorku. I slabá intenzita na testovacích linkách odpovídá pozitivnímu výsledku vyšetření. Nicméně test je pouze kvalitativní a nemůže být použit pro kvantitativní stanovení antigenů ve vzorku. Různá intenzita kontrolní linky je akceptovatelná.

VI. ÚČINNOST

A. Senzitivita a Specificita

Diagnostikum bylo validováno v Saint- Pierre Hospital v Bruselu (Belgie) srovnáním výsledků Adeno Respi-Stripu s ICT testy .

Senzitivita a specificita byla testována na 127 vzorcích nasofaryngeálních výtěrů.

Výsledky jsou následující:

	ICT		Celkem
	Pozitivní	Negativní	
Adeno Respi -Strip			
Pozitivní	47	4	51
Negativní	3	73	76
Celkem	50	77	127

Senzitivita = 94,0 % (47/50)

Specificita = 94,8 % (73/77)

Přesnost (shoda) = 94,5 % (120/127)

(N=127)

B. Přesnost

Přesnost mezi šaržemi:

Jeden Adenovirus- pozitivní vzorek byl testován 3x různými šaržemi

Adeno Respi-Stripu.

Ředící pufr byl paralelně testován 3x s Adenovirus- pozitivním vzorkem.

Výsledky byly stejné ve 100 %.

U všech testovaných šarží vyšly Adenovirus- pozitivní vzorky v ředění

1 : 1600 pozitivně, ředící pufr negativně.

Přesnost v rámci šarže:

Jeden Adenovirus-pozitivní vzorek byl testován 15x jednou šarží Adeno Respi – Stripu.

Ředící pufr byl paralelně 15x testován s pozitivním vzorkem Adenoviru.

Výsledky byly stejné ve 100 %.

Všech 15 testů Adenovirus-pozitivního vzorku bylo v ředění 1 : 1600 pozitivních.

Všech 15 testů ředícího pufru bylo negativních.

C. Interference

Zkřížená reaktivita byla prověřena testováním pozitivních vzorků:

RSV

Influenza A,

Influenza B

Mycoplasma pneumoniae

Parainfluenza type III

Legionella pneumophila

Ve všech případech byl výsledek testů vyšetřovaných vzorků negativní.

Test zkřížené reaktivity byl také proveden na vzorcích *Staphylococcus aureus* a byl nalezen jako pozitivní až při koncentracích bakterií vyšších než 10^9 CFU/ml.

D. Detekční limit

Detekční limit byl proveden s antigeny Adenoviru – 5 a byl stanoven na 1×10^9 vp/ml

VII. LIMITY KITU:

Adeno Respi-Strip je test pro screening v akutní fázi onemocnění. Nasofaryngeální výtěry odebrané později mohou mít titer AV antigenu pod prahem senzitivity diagnostika. Vyšetření Adeno Respi-Stripem musí být porovnáváno se všemi dostupnými klinickými a laboratorními informacemi. Pokud je výsledek testu negativní, přestože pacient jeví příznaky onemocnění, je třeba provést ověření kultivační vzorku.

Pozitivní výsledek testu nevylučuje možnost přítomnosti jiných patogenů.

Dodává:

Jan Krouský – DIOXO
Sídlištní 24
165 03 Praha 6 – Suchdol
tel., fax: 220 920 656, 220 921 873
e-mail: dioxo@dioxo.cz

Výrobce:

Coris BioConcept
Rue Jean Sonet, 4 A
B – 5032 Gembloux-Belgie
Tel: +32(0)81719917
e-mail: coris.bc@skynet.be
<http://www.corisbio.com>

VIII. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Neotevřené balení Adeno Respi-Strip se skladuje při 4 – 30 °C.

Doba použitelnosti je vyznačena na štítku obalu.

Neotevřené diagnostikum zůstane stabilní při teplotě 4 – 30 °C po celou dobu použitelnosti.

Otevřené balení se uchovává v suchém prostředí při teplotě 4 - 30 °C.

Při těchto skladovacích podmínkách zůstane stabilní 15 týdnů.

Diagnostikum (stripy a pufr) nesmí zmrznout!

IX. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

- Test musí být proveden podle „Správné laboratorní praxe“ (SVP).
- Adeno Respi-strip je pouze pro použití in vitro.
- Nedotýkat se prsty nitrocelulozy stripů!
- Při manipulaci se vzorky je vhodné používat rukavice.
- Likvidace veškerého materiálu použitého při práci musí být provedena podle SVP.
- Reagencie z balení různých šarží se nesmí nikdy zaměňovat!
- Stripy jsou citlivé na vlhkost, lahvičky mají být otevřeny jenom na nejkratší potřebnou dobu. Je nutno se přesvědčit, je-li v lahvičce desikant.
- Dvě slabé zelené linky na stripech označují místa absorpce protilátek.
- Pokud je extrakční pufr kontaminován bakteriemi nebo plísněmi, je nutno jej zlikvidovat.
- Kvalita diagnostika nemůže být zaručena po uplynutí expirační doby nebo při nedodržení skladovacích podmínek.

Aktualizace: IX/2008