

ADENO RESPI K - SeT

Kód: C 1509, 20 testů v jednom balení, s odběrovou soupravou

Kód: C 1209, 20 testů v jednom balení, bez odběrové soupravy

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 (diarea, hemoragická cystitida).

Klinický obraz AV je rozmanitý, od asymptomatických nákaz po závažná, vyjímečně 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 imunosupresované pacienty, u kterých může končit až letálně. AV je středně velký, ikosaedrální, 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 technologii homogenního membránového systému. Nitrocelulózová membrána je senzitivizována protilátkami proti AV antigenům. Specifita testu je zajištěna monoklonálními protilátkami přímo proti AV hexonovým antigenům, které jsou konjugovány s koloidním zlatem a specifickými monoklonálními protilátkami navázanými na nitrocelulózové membráně. Konjugát je imobilizován na polyesterové membráně.

Cílem tohoto testu je detekce respiračního AV buď v nasofaryngeálním sekretu nebo kultivačním supernatantu po několika dnech od počátku klinických projevů (pro lepší senzitivitu testu).

Jestliže extrakční roztok NPS (nasofaryngeální sekret) nebo kultivační extrakční roztok přijde do kontaktu s membránou, rozpuštěný konjugát se vzorkem migruje pasivní difúzí. Konjugát a vzorek přicházejí do kontaktu s protilátkami proti AV adsorbovanými na nitrocelulózové membráně. Jestliže vzorek obsahuje AV, komplex konjugát – adenovirus se naváže na anti – adenovirus protilátku adsorbované na

nitrocelulózu. Výsledek je viditelný do 15 minut v podobě červené linky, která se objeví v okénku pro výsledek. Roztok pokračuje v migraci až do míst, kde se naváže kontrolní konjugát a vytvoří se druhá červená linka. Vytvoření této linky potvrzuje validitu testu. Kazeta na které se objeví obě červené linky je hodnocen jako pozitivní na přítomnost AV ve vyšetřovaném vzorku.

III. REAGENCIE A MATERIÁLY

Každé Adeno Respi K-SeT diagnostikum obsahuje:

- 20 ks jednotlivě zabalených testovacích destiček. Každá destička obsahuje jeden senzibilizovaný strip. Každá destička je v samostatném obalu s desikantem.
- Extrakční pufr (15ml)
Pufrovaný solný roztok pH 7,5, obsahující NaN_3 (< 0,1%) a detergent.
- Materiál dodávaný s diagnostikem C-1509:
Odběrový materiál – tampóny MicroRheolics (kód 553C)

Materiál, jenž lze samostatně objednat:

- Adenovirus pozitivní kontrola (C-1082)
- Negativní kontrola (CTR-1000)

IV. ZVLÁŠTNÍ OPATŘENÍ

- § Test musí být proveden podle „Správné laboratorní praxe“ (SLP).
- § Adeno Respi K-SeT test je pouze pro diagnostiku in vitro.
- § Obal musí být otevírán s opatrností
- § Při práci se nesmí dotýkat prsty nitrocelulózového pásku!
- § Při manipulaci se vzorky je vhodné používat rukavice.
- § Reagencie z balení různých šarží se nesmí nikdy zaměňovat!
- § Dvě slabé zelené linky na stripech označují místa absorbce 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.

V. LIKVIDACE POUŽITÉHO MATERIÁLU

- § Likvidace veškerého materiálu použitého při práci musí být provedena podle SLP.
- § Každý uživatel je zodpovědný za provedení veškeré likvidace, která musí splňovat aktuální legislativu dané problematiky

VI. SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Neotevřené balení Adeno Respi K-SeT 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.

Dlouhodobá teplotní stabilita je zaručena firmou Coris BioConcept.

Adeno Respi K-SeT diagnostikum (kazety a pufr) nesmí zmraznout!

VII. ODBĚR VZORKŮ

Odběr vzorků má být prováděn podle standardních metod pro odběr nasofaryngeálního výtěru vatovými tampony do transportního média, za sterilních podmínek. (Zprávy CEM, 9/2000, str. 369-370.).

Doporučený postup při odběru materiálu pro vyšetření respiračních virů.

Nasofaryngeální výtěry by měly být vyšetřeny v co nejkratší době po odběru. Pokud nelze vyšetřovaný materiál zpracovat ihned, je nezbytné jej uchovávat po dobu 24 hodin při teplotě 2 – 8 °C, po delší dobu při teplotě -20 °C. Doba uchování je závislá na použitém transportním mediu. Tampóny MicroRheologics s Copan UTM mohou být uchovávány při teplotě 2 – 8 °C nejdéle po dobu 72 hodin.

Následující transportní média byla testována a shledána jako kompatibilní k Adeno Respi K-SeT:

M4 a M5 od Remel, Virocult medium, Hank´s BSS použitý ve Vircell mediu, RPMI, E-Swab od Copan. Stuartovo transportní medium a Amiesovo medium není s tímto testem kompatibilní.

Kromě výtěrů pomocí MicroRheologics (dodávané s K-1509), nejsou ostatní nazální výtěry uznány jako správná metoda odběru vzorků. Proto Coris nedoporučuje používání ostatních tampónů než výše uvedených a negarantuje stejnou účinnost testu při použití NP výplachů nebo aspirátů jako vzorků. Důrazně se upozorňuje, aby se zabránilo používání sputa.

Vzorky se nesmějí upravovat roztoky obsahující formaldehyd nebo jeho deriváty.

VIII. PRACOVNÍ POSTUP

Provedení:

Jestliže je Adeno Respi K-SeT uchováván při 4 °C, je nutné veškeré reagencie před použitím vytemperovat na pokojovou teplotu.

Po otevření obalu, vyjmout kazetu a položit na rovnou, suchou plochu. Test musí být proveden v co nejkratším čase po otevření.

Každou kazetu označit jménem pacienta či číslem vzorku. Na každý vzorek použít jednu kazetu.

Příprava vzorku:

Nebyla stanovena účinnost testu pro jiné než nasofaryngeální sekrety.

1. Tekuté nasofaryngeální sekrety, buněčné supernatanty nebo aspiráty:
Jestliže je testovaný vzorek kapalina smíchá se 100µl se s 100µl nebo 4 kapkami extrakčního pufru. Poměr ředění je tedy 1:1.
2. Stěry: Stěry mohou být uchovávány buď v tubách obsahujících transportní médium nebo v zařízení s gelem či spongiózní hmotou. Alternativou mohou být suché tampóny MicroRheologics.
 - a) Jestliže je stěr uchováván v tekutém transportním mediu, 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 nebo 15 kapek extrakčního pufru, rozmíchat a tampón se stěrem vymačkat o stěny zkumavky. Dále pokračovat bodem 1.
3. Zkumavky je nutné důkladně protřepat a nechat 10 minut inkubovat.
4. Pomalu nanést 100µl připraveného vzorku na testovací destičku, jak je níže ilustrováno.
5. Nechat 15 minut reagovat. Výsledky musí být odečítány ze čtecího okénka. Některé pozitivní výsledky se mohou objevit dříve. Výsledky musí být odečítány z ještě vlhkého stripu.

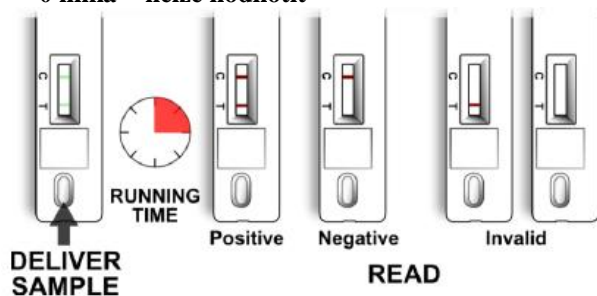
IX. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky jsou interpretovány následovně:

1 linka = negativní (horní C)

2 linky = pozitivní (dolní T a horní C)

0 linka = nelze hodnotit*



*Absence kontrolní linky (horní linka C) - výsledek je neplatný. Test je nutno opakovat.

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.

Při vysychání se může objevit zašednutí testovacích linek. Není doporučeno vyschlá diagnostika hodnotit jako pozitivní.

X. 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:

Adeno Respi -Strip	ICT		Celkem
	Pozitivní	Negativní	
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 AV- pozitivní vzorek byl testován 3x různými šaržemi Adeno Respi-Stripu.

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

Výsledky byly stejné ve 100 %.

U všech testovaných šarží vyšly AV- pozitivní vzorky v ředění

1 : 1600 pozitivně, ředící pufr negativně.

Přesnost v rámci šarže:

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

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

Výsledky byly stejné ve 100 %.

Všech 15 testů AV-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 AV – 5 a byl stanoven na 1×10^6 vp/ml

XI. LIMITY KITU

Výsledky testu musí být srovnávány se všemi dostupnými klinickými a laboratorními informacemi.

Pozitivní výsledek testu nezaručuje, že nejsou přítomny jiné patogeny.








Adeno Respi K-SeT test je screeningový test, který se používá při akutní fázi onemocnění. Vzorky stolic, které jsou odebrané po této fázi, mohou obsahovat titry antigenů pod prahem citlivosti diagnostika.

XII. TECHNICKÉ PROBLÉMY / STÍŽNOSTI

Jestliže se setkáte s technickým problémem, nebo účinnost diagnostika nebude korespondovat s údaji, které jsou uvedeny v tomto článku:

- 1) Při dotazu vždy uveďte číslo šarže
- 2) Je-li to nezbytné, uchovejte problematický vzorek zmrzlý jak dlouho bude třeba.
- 3) Kontaktujte vašeho distributora nebo Coris BioConcept.

Aktualizace: X. 2011

REF	Catalogue number		Manufactured by
IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Contains sufficient for <math>n> tests	DIL SPE	Diluent specimen
	Consult instructions for use		Do not reuse
	Keep dry		Use by
DIL AS	Diluent assay	CONT NaN_3	Contains Sodium azide

Dodává: Jan Krouský – DIOXO
Sídlíštní 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>