

Platintojas :

UAB "Diagnostinės Sistemos"

Kalvarijų sodų 1-oji g 2, LT-08315 Vilnius

Tel. 8 5 2740494, Fak. 8 5 2777620



PASKIRTIS

Greitas kokybinis Influenza A ir B virusų nustatymas tiriant nosiaryklės tepinėlių ir nosies aspirantų mėginius.

Skirtas profesionaliam naudojimui in vitro diagnostikai.

BENDRA INFORMACIJA

Influenza (t.p. gripas) – užkrečiama, ūminė virusinė kvėpavimo takų infekcija. Tai lengvai visuomenėje plintanti liga perduodama kosant, čiaudant oro lašeliniu būdu [1]. Paprastai šis virusas suaktyvėja šaltuoju metu laikotarpiu, t.y. žiemos mėnesiais. A tipo virusas yra nustatomas nei B tipo virusas ir susijęs su gripo epidemijomis, o B tipo virusas yra švelniausias.

Aukštinis laboratorinės diagnostikos standartas: 14 dienų ląstelių auginimas, sustiprina gripo viruso augimą [2]. Šių tyrimų nauda yra ribota. Polimerazės grandininė reakcija (RT-PCR), šis metodas yra žymiai jautresnis, kultūrų nustatymo greitis 2-23% [3]. RT-PCR tyrimai yra žymiai brangesni ir gali būti atliekami specialiose laboratorijose.

Influenzae A ir B tyrimas (tepinėlio, aspiranto ėminiai) – kokybinis gripo A ir B tipo antigenų nustatymas, reakcijos laikas 15 minučių. Tyrimo reakcijoje dalyvauja Influenza A ir B specifiniai antikūnai ir galimai ėminiuose esantys Influenza A ir B specifiniai antigenai.

REAKCIJOS PRINCIPAS

Tai kokybinis tyrimas skirtas Influenza A ir B antigenų nustatymui tiriant nosiaryklės tepinėlius ir nosies aspirantus. Tyrimo eigoje ėminiuose nustatomi Influenza A ir B fermentiniai branduoliai. Tyrimo linijos atspirai esančios tyrimo plokštelėje yra dengtos antikūnais specifiniais Influenza A ir B fermentiniams branduoliams. Tyrimo eigoje paruoštas mėginys sureaguoja Influenzae A ir B antikūnais dengtomis dalelėmis. Gautas junginys juda į reakcijos zoną ir reaguoja su Influenza A ir B antikūnais, to pasekoje pasikeičia vienos ar abiejų linijų spalvos. Vienos ar dviejų spalvotų linijų atsiradimas tyrimo zonoje parodo teigiamus rezultatus. Papildomai plokštelėje yra dar viena kontrolės linija, t.y. vidinė tyrimo kontrolė.

REAGENTAI

Plokštelė dengta monokloniniais antikūnų prieš-Influenza A ir B antikūnais dalelėmis ir membrana dengta antikūnais prieš Influenza A/B.

ISPĖJIMAI

1. Prieš tyrimus būtina perskaityti instrukciją.
2. Skirta tik profesionaliam naudojimui in-vitro diagnostikai. Nenaudoti pasibaigus galiojimo laikui.
3. Plokštelę galima išpakuoti tik prieš tyrimą.
4. Atliekant tyrimus būtina laikytis darbo su pavojingomis infekcijomis reikalavimų.
5. Utilizuojant laikytis bendros darbo laboratorijoje tvarkos.

LAIKYMAS IR STABILUMAS

Rinkinius gali būti laikomas kambario temperatūroje 2-30° C temperatūroje. Tyrimo plokštelės stabilumas yra iki datos nurodytos ant pakuotės. Plokštelės išpakuokite tik prieš tyrimą. Negalima užšaldyti. Nenaudoti pasibaigusio galiojimo laiko reagentų.

ĖMIŲ SURINKIMAS IR PARUOŠIMAS

- Nosofaringitinių tepinėlių: sterilų tamponą įkiškite į nosies ertmę ir atsargiai surinkite epidermines gleives.
- Ryklės tepinėliai: įkiškite sterilų tamponą į ryklę ir paaimkite epiderminių gleivių nuo tonzilių ir gomurio, svarbu nepaimti seilių ėminių.
- Nosies aspirantai: prijunkite aspiratinį kateterį su aspiranto vamzdeliu prie prietaiso, paaimkite aspiranto ėminį. Su steriliu tamponu paaimkite ėminį iš aspirato.

RINKINIO SUDĖTIS

- Tyrimo juostelės
- Mėgintuvėlių mėginių surinkimui su ekstrakciniu buferiu
- Sterilūs tamponai
- Instrukcija

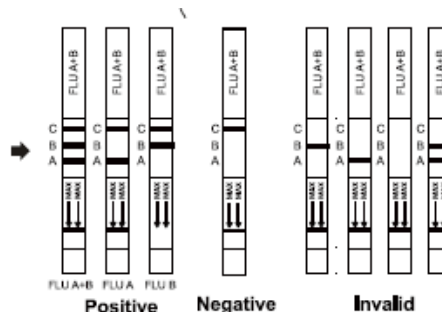
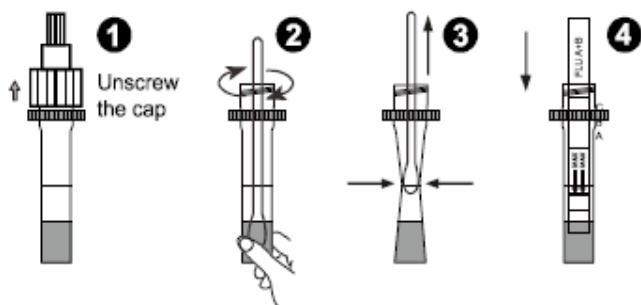
TYRIMAMS PAPILDOMAI REIKALINGOS PRIEMONĖS

Chronometras, priemonės aspiranto surinkimui.

TYRIMO EIGA

Prieš tyrimą visi reagentai turi būti kambario temperatūros 15-30° C.

1. Iš pakuotės išimkite tyrimo juosteles ir kuo greičiau jas panaudokite. Rekomenduojama juosteles išpakuoti prieš pat tyrimą, tai užtikrina tyrimo tikslumą.
2. Atidaryti mėgintuvėlio mėginio surinkimo dangelį, žr. pav. 1.
3. Tamponą su paimtu mėginiu patalpinkite į mėginio mėgintuvėlį ir pasukite 10 sekundžių spausdami tamponą į vidinę mėgintuvėlio sienelę, kad kuo daugiau ėmimo pasiliktu tirpale, žr. pav. 2.
4. Ištraukite tamponą iš mėginio paruošimo mėgintuvėlio nubraukiant tamponą į vidines mėgintuvėlio sienelės, kad kuo daugiau skysčio liktu mėgintuvėlyje. Tamponą utilizuokite kaip nurodyta Jūsų laboratorijos taisyklėse, žr. pav. 3.
5. Tyrimo juostelę įmerkite į mėgintuvėlį ir fiksukite reakcijos pradžią. Jei tyrimas atliekamas laikantis nuorodų, tai juostelę į paruoštą mėginį turi būti įmerkta iki pažymėtos MAX ribos, žr. pav. 4.
6. Palaukite kol juostelėje pasikeis linijų spalva. Reakcijos rezultatas fiksuojamas po 15 minučių. Rezultato nerekomenduojama vertinti praėjus daugiau nei 20 minučių nuo reakcijos pradžios.



REZULTATŲ INTERPRETAVIMAS

Teigiamas Influenzae A : matomos dvi spalvotos linijos; viena linija kontrolės (C), kita linija Influenzae A (A). Mėginyje nustatomas Influenzae A antigenas.

Teigiamas Influenzae B : matomos dvi spalvotos linijos; viena linija kontrolės (C), kita linija Influenzae B (B). Mėginyje nustatomas Influenzae B antigenas.

Teigiamas Influenzae A ir B : matomos trys spalvotos linijos; viena linija kontrolės (C), kita linija Influenzae A (A) ir trečia linija Influenzae B (B). Mėginyje nustatomas Influenzae A ir B antigenai.

Pastaba: spalvų intensyvumai A ir B linijose priklauso nuo Influenzae antigenų koncentracijos mėginyje. Todėl bet koks spalvos atsiradimas vertinimo zonoje – teigiamas rezultatas.

Neigiamas : matoma viena spalvota linija kontrolės (C), kitose zonose spalvų pasikeitimo nėra.

Klaidingas : jei kontrolės zonoje spalvinio pasikeitimo nėra, tada nėra spalvos pasikeitimo tyrimo zonoje, rezultatas klaidingas ir netinkamas vertinti. Tyrimą būtina pakartoti iš naujo

KOKYBĖS KONTROLĖ

Vidinė kokybės kontrolė: ji yra kiekvienoje tyrimo plokštelėje kontrolės linija (C). Ši kontrolė parodo, kad tyrimo eiga yra teisinga, naudotos medžiagos tinkamos tyrimui. Kontrolės linija spalvota, o membranos pagrindas gali būti nuo baltos iki rausvos spalvų, neturi trukdyti rezultato vertinimui.

Išorinė kokybės kontrolė: jos nėra rinkinio sudėtyje. Laikantis GLP rekomenduojama periodiškai šiuos tyrimus atlikti.

TYRIMO APRIBOJIMAI

- 1. Skirta in vitro diagnostikai. Tyrimas skirtas Influenzae A ir B antigenų kokybiniam nustatymui. Esant poreikiui rekomenduojama atlikti ir kiekybinius tyrimus.
- 2. Šis tyrimas yra kokybinis.
- 3. Vertinant galutinį rezultatą būtina įvertinti kitus tyrimus ir klinikinius duomenis.
- 4. Gavus neigiamą rezultatą rekomenduojama atlikti mikrobiologinę pasėlio tyrimą, nustatant yra svarbi antigenų koncentracija mėginyje.
- 5. Kraujo ar gleivių priemaišos ėminyje gali įtakoti klaidingus teigiamus rezultatus.
- 6. Tyrimo kokybė tiesiogiai priklauso nuo surinkto ėminio kokybės.
- 7. Per didelės antigenų koncentracijos gali įtakoti klaidingus rezultatus.
- 8. Teigiami antigenų nustatymai negali įtakoti koinfekcijų patogenų nustatymą, todėl būtina tai įvertinti.

LAUKIAMIE REZULTATAI

Tyrimų rezultatai naudojant šiuos rinkinius buvo palyginti su kitais komerciniais TR-PGR (tikro laiko polimerazės grandininė reakcija) tyrimų rezultatais , tyrimų rezultatai atitiko 97%.

PAGRINDINĖS CHARAKTERSTIKOS

Jautrumas, specifiškumas ir atitikimai

Buvo palyginti greitų ir TR-PGR tyrimų rezultatai. Tyrimų rezultatai pateikiami žemiau lentelėje:

Nosofaringitinių tepinėlių ėminiai

		A tipas			B tipas		
		TR-PGR		Bendrai	TR-PGR		Bendrai
		Teigiama	Neigiama		Teigiama	Neigiama	
Flu A+B	Teigiama	100	2	102	85	2	87
	Neigiama	1	180	181	2	200	202
Bendrai		101	182	283	87	202	289
Santykinis jautrumas		99%			97,7%		
Santykinis specifiškumas		98,9%			99%		
Atitikimas		98,9%			98,6%		

Ryklės tepinėlių ėminiai

		A tipas			B tipas		
		TR-PGR		Bendrai	TR-PGR		Bendrai
		Teigiama	Neigiama		Teigiama	Neigiama	
Flu A+B	Teigiama	58	1	59	65	1	66
	Neigiama	3	150	153	4	162	166
Bendrai		61	151	212	69	163	232
Santykinis jautrumas		95,1%			94,2%		
Santykinis specifiškumas		99,3%			99,4%		
Atitikimas		98,1%			97,8%		

Nosies aspirato ėminiai

		A tipas			B tipas		
		TR-PGR		Bendrai	TR-PGR		Bendrai
		Teigiama	Neigiama		Teigiama	Neigiama	
Flu A+B	Teigiama	46	2	48	94	1	95
	Neigiama	0	241	241	2	158	160
Bendrai		46	243	289	96	159	255
Santykinis jautrumas		100%			97,9%		
Santykinis specifiškumas		99,2%			99,4%		
Atitikimas		99,3%			98,8%		

Aktyvumas vertinant žmogaus Influenzae štamus, pastebėti šie rezultatai

Influenzae A virusas	Influenzae A virusas	Influenzae B virusas
A/NWS/33 10(H1N1)	A/Vištos/Yuyao/2/2006(H5N1)	B/R5
A/Honkongas/8/68/(H3N2)	A/Kiaulės/Hubei/251/2001 (H9N2)	B/Rusija/69
A/Port Chalmers/1/73(H3N2)	A/Anties/Hubei/216/1983 (H7N8)	B/Lee/40
A/W/33(H1N1)	A/Anties/Hubei/137/1982 (H10N4)	B/Honkongas/5/72
1/New Jersey/8/76(HswN1)	A/Anhui/1/2013 (H7n9)	
A/Mal/302/54(H1N1)		

Virusinių štamų įvairūs tyrimai

Sukelėjas	Koncentracija	Sukelėjas	Koncentracija
Human adenovirus C	5.62 x 10 ⁵ TCID50/ml	Human herpesvirus 2	2.81 x 10 ⁵ TCID50/ml
Human adenovirus B	1.58 x 10 ⁴ TCID50/ml	Human Rhinovirus 2	2.81 x 10 ⁴ TCID50/ml
Adenovirus type 10	3.16 x 10 ³ TCID50/ml	Human Rhinovirus 14	1.58 x 10 ⁶ TCID50/ml
Adenovirus type 18	1.58 x 10 ⁴ TCID50/ml	Human Rhinovirus 16	8.89 x 10 ⁶ TCID50/ml
Human coronavirus OC43	2.45 x 10 ⁶ LD50/ml	Measles	1.58 x 10 ⁴ TCID50/ml
	2.65 x 10 ⁴ LD50/ml	Mumps	1.58 x 10 ⁴ TCID50/ml
Coxsackievirus A9	1.58 x 10 ⁵ TCID50/ml	Sendai virus	8.89 x 10 ⁷ TCID50/ml
Coxsackievirus B5	1.58 x 10 ⁷ TCID50/ml	Parainfluenza virus 2	1.58 x 10 ⁷ TCID50/ml
Human herpesvirus 5	1.58 x 10 ⁴ TCID50/ml	Parainfluenza virus 3	1.58 x 10 ⁸ TCID50/ml
Echovirus 2	3.16 x 10 ⁵ TCID50/ml	Respiratory syncytial virus	8.89 x 10 ⁴ TCID50/ml
Echovirus 3	1 x 10 ⁴ TCID50/ml	Human respiratory syncytial virus	1.58 x 10 ⁵ TCID50/ml
Echovirus 6	3.16 x 10 ⁶ TCID50/ml	Rubella	2.81 x 10 ⁵ TCID50/ml
Herpes simplex virus 1	1.58 x 10 ⁶ TCID50/ml	Varicella-Zoster	1.58 x 10 ³ TCID50/ml

TCID50= dozė, kai nustatomas viruso titras
LD50= letalinė viruso dozė

Tikslumas

Buvo palyginti penki Influenzae standartų kontrolių mėginiai. Tyrimams buvo panaudoti trijų skirtingų serijų rinkiniai ir atliekant greitą imunochromatografinį tyrimą ištirti neigiami, silpnai Influenzae A teigiami, silpnai Influenzae B teigiami, stipriai Influenzae A ir B teigiami mėginiai. Nuosekliai 3 dienas iš eilės buvo tirti 10 replikatų. Rezultatai atitiko >99%.

Kryžminės reakcijos









Buvo tirti organizmai, kurių koncentracijos 1,0x10⁸org/ml, gauti visi neigiami rezultatai Influenzae A ir B:

<i>Arcanobacterium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus aureus subsp.aureus</i>
<i>Corynebacterium</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus saprophylicus</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Haemophilus</i>	<i>Streptococcus dysgalatiae / subsp.dysgalatiae</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Streptococcus oralis formerly Streptococcus</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Neisseria subflava</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Streptococcus sp group F.type 2</i>

LITERATŪRA

1. Williams, KM, Jackson MA, Hamilton M. (2002) Rapid Diagnostic Testing for URIs in Children; Impact on Physician Decision Making and Cost. *Infect. Med.* 19(3): 109-111.
2. Betts, R.F. 1995. Influenza virus, p. 1546-1567. In G.L. Mandell, R.G. Douglas, Jr. and J.E. Bennett (ed.), *Principle and practice of infectious diseases*, 4th ed. Churchill Livingstone, Inc., New York, N.Y.
3. WHO recommendations on the use of rapid testing for influenza diagnosis, World Health Organisation, July 2005.

Simboliai

	Dėmesio		Produkto kodas
	Tik in vitro tikslais		Naudoti iki
	Saugoti tarp		Gamintojas
	Testų sk.		Vienkartiniam naudojimui