

	Јавна здравствена установа Болница „Свети Врачеви“ Бијељина Српске војске 53			МИ-10-015
<i>Доказивање присуства ротавируса и аденовируса у столици имунохроматографским тестом</i>				
Страна 1 од 4	Издање:	Важи од:	Одобрио	Копија број
	1	2021-04-02	др Санда Лазих руководилац Службе за микробиологију са паразитологијом	Е

1. СВРХА ИСПИТИВАЊА

Доказивање присуства ротавируса и аденовируса у столици имунохроматографским тестом.

2. ПРИНЦИП И МЕТОД ПРОЦЕДУРЕ КОЈА СЕ КОРИСТИ ЗА ИСПИТИВАЊЕ

Брзи, квалитативни, двоструки тест за детекцију рота и адено вируса, базиран на ИЦТ техници.

3. КАРАКТЕРИСТИКЕ ПЕРФОРМАНСИ

Ротавирус: специфичност 100%, сензитивност 100%;

Аденовирус: специфичност 100%, сензитивност 100%;

Није забиљежена унакрсна реактивност између рота и аденовируса.

4. ВРСТА УЗОРКА

Фецес пацијената са акутним гастроентеритисом (дјечији узраст).

5. ПРИПРЕМА ПАЦИЈЕНАТА

У складу са упутством УП-10-135: *Упутство за узимање и транспорт узорака за микробиолошку дијагностику.*

6. ВРСТА ПОСУДЕ И АДТИВИ

У складу са упутством УП-10-135: *Упутство за узимање и транспорт узорака за микробиолошку дијагностику.*

7. ОПРЕМА И РЕАГЕНСИ

Реагенси: Vikia Rota-Adeno, BioMérieux.

Оригинални кит (20 тестова) који садржи:

R1 (20 тест узорака) – који садржи овчија антимишија IgG поликлонална антителија + антиретровирусна и антиаденовирусна мишија моноклонална антителија + полистирен микрочестице сензибилизоване са антиретровирусним и антиаденовирусним мишијим моноклоналним антителијама + 0,9 g/l содијум азида.

R2 (20 бочица са дилуционим буфером за узорак столице) – фосфатни буфер (pH 7,2) + 0,9 g/l содијум азида.

VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1

Имунохроматографски тест VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1 оригинални кит (20 тестова) који садржи: једнократне пластичне капалке 20 ком, пластичне бочице са 2 ml екстракционог раствора, апликаторе за узорак.

Апарати: вортекс.

Болница Бијељина	Страна 2 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-015
		1	2021-04-02	

8. УПРАВЉАЊЕ УСЛОВИМА СРЕДИНЕ И БЕЗБЈЕДНОШЋУ

Анализу спроводити у уобичајеним микроклиматским условим у лабораторији, 20-24° Целзијуса, у складу са УП-10-023: *Употреба средстава личне заштите у Служби за микробиологију са паразитологијом* и УП-10-142: *Мјере заштите на раду у Служби за микробиологију са паразитологијом*.

Све компоненте теста чувати на собној температури, односно у опсегу +2-30°. под таквим условима кит је стабилан до рока истека назначеном на паковању. Препорука је да се тест изводи у биосигурносном кабинету. Након завршетка процедуре дезинфиковати радно мјесто. Сав материјал у контакту са узорком и узорак аутоклавирати након завршетка анализе.

9. ПРОЦЕДУРЕ КАЛИБРАЦИЈЕ (МЕТРОЛОШКА СЛЕДЉИВОСТ)

Није примјењиво.

10. КОРАЦИ ПРОЦЕДУРЕ

Обрада узорка: **Vikia Rota-Adeno, BioMérieux**

Помоћу апликатор стика који се налази у чепу тубе узети 50 mg столице и пренијети у тубу која садржи дилуциони буфер. Ако је столица течна, помоћу пластичне капаљке узети 1-2 ml или 1-2 g чврсте столице и пренијети у тубу са буфером. Добро затворити и мућкати да би дошло до хомогенизације. Овако хомогенизован узорак се користи за извођење реакције.

VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1

1. Написати број протокола на пластичну бочицу са раствором за екстракцију;
2. Уз помоћ апликатора у бочицу пренијети узорак столице (величине зрна грашка за чврсте, 200 µl за течне узорке);
3. Чврсто затворити бочицу и добро протрести да се узорак столице и дилуент измијешају;
4. Оставити у усправном положају да се исталоже веће честице (или центрифугирати 1 мин на 500-1.000 rpm);
5. Прије употребе је неопходно држати тест реагенсе на собној температури!

Vikia Rota-Adeno, BioMérieux

1. Тест плочицу извадити из фолије и ставити на равну и суху површину. Откинути врх тубе у којој се налази хомогенизирани узорак фецеса и држећи га вертикално укапати 2 капи (око 80µl) у отвор S и истовремено почети мјерити вријеме.
2. Пратити појаву контролне линије «С» (љубичаста линија) и евентуално линија за рота вирус «R» (плава линија) и за аденовирус «А» (црвена линија) унутар 10 до 15 минута.

VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1

1. Тест плочицу извадити из фолије и ставити на равну и суху површину. Отворити пластичну бочицу са екстрахованим узорком. Уз помоћ пластичне пипете додати 6 капи (200 µl) екстрахованог раствора у сваки бунарић за узорак. Резултат читавати 10 мин након додавања узорка.

11. ПРОЦЕДУРЕ КОНТРОЛЕ КВАЛИТЕТА

Када је доступна комерцијална позитивна контрола радити је према упутству за тест, као и узорак (за нови лот урадити позитивну контролу, уколико постоји уочен проблем у чувању теста, у резултатима тестирања).

Болница Бијељина	Страна 3 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-015
		1	2021-04-02	

Сваки тест стрип има интегрисану контролу којом контролишемо количину узорка и кретање узорка кроз стрип, у контролној зони (C) по завршетку теста увек треба да се појави контролна линија. Одсуство ружичасте контролне линије у контролној зони (C) упућује на неважећи резултат.

12. ИНТЕРФЕРЕНЦЕ

Нису прихватљиви узорци који садрже транспортни медијум, конзервансе, животињски серуме, детергенте. Присуство веће количине крви у узорку може дати лажно позитиван резултат у ограниченом броју случајева. Узорци столице позитивни на астровирус и ентеровирус нису показивали унакрсну реактивност, односно позитиван резултат на VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1.

13. ПРИНЦИПИ ПРОЦЕДУРЕ ЗА ИЗРАЧУНАВАЊЕ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

14. БИОЛОШКИ РЕФЕРЕНТНИ ИНТЕРВАЛИ И ВРИЈЕДНОСТИ КЛИНИЧКОГ ОДЛУЧИВАЊА

Позитиван резултат не искључује присуство других патогених микроорганизама у столици. Резултат мора бити интерпретиран узимајући у обзир клиничку симптоматологију и резултате других дијагностичких тестова.

15. ИНТЕРВАЛ ИЗВЈЕШТАВАЊА О РЕЗУЛТАТИМА ИСПИТИВАЊА

Није примјењиво.

16. УПУТСТВА ЗА ОДРЕЂИВАЊА КВАНТИТАТИВНИХ РЕЗУЛТАТА

Није примјењиво.

17. АЛАРМАНТНЕ/КРИТИЧНЕ ВРИЈЕДНОСТИ

Није примјењиво.

18. КЛИНИЧКО ТУМАЧЕЊЕ ЛАБОРАТОРИЈЕ

Vikia Rota-Adeno, BioMérieux

Резултат никада не интерпретирати ако је прошло 15 минута. Линија контроле «C» увијек мора бити позитивна.

Тест је негативан: Појава љубичасте линије у региону «C», док се у регионима «R» и «A» не појављује линија.

Тест је позитиван за Рота и Адено: појава линија у регионима «C», «R» и «A».

Позитиван Рота вирус: појава линија у регионима «C» и «R».

Позитиван Адено вирус: појава линија у регионима «C» и «A».

Ако се не појави љубичаста линија у региону «C», могућа је грешка у техници извођења теста. Поновити процедуру са новим тестом. Ако се проблем понови, обуставити кориштење кита и контактирати дистрибутера.

Тест је високо сензитиван (за Рота вирус 100% и Адено вирус 97,6%) и високоспецифичан (100%).

Позитиван резултат не искључује присуство других патогених микроорганизама у столици. Резултат мора бити интерпретиран узимајући у обзир клиничку симптоматологију и резултате других дијагностичких тестова.

Овим тестом никада не тестирати меконијум.

Болница Бијељина	Страна 4 од 4	Издање:	Важи од:	МИ-10-015
		1	2021-04-02	

Напомена: Интензитет плаве односно црвене боје линија «R» и «A» зависе од концентрације вирусних честица у узорку. Лажно негативан резултат је могућ ако је број вирусних честица сувише мали. Код протрахираног гастроентеритиса тест је неопходно поновити након 3 до 5 дана.

VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1

- Негативан: присутна само једна обојена линија (у контролној зони);
- Позитиван: уз контролну црту присуство јасно присуство обојене црте у тест зони (рота- или адено);
- Неприхватљив: уколико нема јасне обојене линије у контролној зони. Поновити тест у том случају.

19. ПОТЕНЦИЈАЛНИ ИЗВОРИ ВАРИЈАЦИЈА

Лажно негативан резултат је могућ уколико се узорак не чува на одговарајући начин.

20. РЕФЕРЕНЦЕ

Упутство произвођача VEDA LAB Duo Rota-Adenovirus-Check-1,

Упутство произвођача 31111 Vikia Rota-Adeno, BioMérieux,

Wilhelmi I., Roman E., Sanchez-Fauquier A., Virus causing gastroenteritis, Clin. Microbiol. Infect., 2003.

Flewett T.H. and Woode G.N., The Rotaviruses Archives of Virology, 1978.

Wadell G., Adenoviruses in Principles and Practice of Clinical Virology, 1990.