



Giardia-Kasetes komplekts



Kat. Nr. C-1513

In vitro imūnhromatogrāfiska **Giardia lamblia** cistu noteikšana cilvēka fēcēs

TIKAI IN VITRO, TIKAI PROFESIONĀLAI LIETOŠANAI

Reference: C-1513, 20 testi iepakojumā ar parauga sagatavošanas komplektu.

1. **Kliniskā nozīme**

Giardia lamblia ir viens no galvenajiem diarejas izsaucējiem pasaulē. Parazīts ir augsti patogēns un infekcija tiek pārnesta fekāli-orālā ceļā.

Giardia dzīvo inficētu cilvēku un dzīvnieku zarnu traktā. Var tikt atrasts arī augsnē, pārtikā vai ūdenī un uz virsmām, kas ir bijušas kontaktā ar inficētām cilvēku vai dzīvnieku fēcēm. Lielākajai daļai cilvēku slimība ir pašizārstējoša. Trofozoīti galvenokārt izdalās akūtajā fāzē, kamēr tiek izdalītas cistas un pēc tam seko hroniskā fāze. Gardias izraisa iekaisumu. Tipiskie simptomi ir caureja, gāzu uzkrāšanās zarnās, slikta dūša, tievo zarnu spazmas, svara zudums.

Vēl joprojām izmanto arī mikroskopisko metodi, bet tā ir laika ietilpīga metode un ir nepieciešamas zināmas iemaņas, tāpēc arvien pieejamāk kļūst ELISA metode.

Ar šo Coris BioConcept imūnhromatogrāfisko testu iespējams noteikt Giardia Lamblia cistu klātbūtni nekonzentētā fēcū paraugā 15 minūšu laikā.

2. **Metodes princips**

Imunohromatogrāfisks tests.

Nitrocelulozes homogēna membrāna ir sensitizēta ar antivielām pret Giardia lamblia cistu membrānu antigēnu. Ja paraugs satur cistas, veidojas antigēna – antivielas komplekss. Rezultāts redzams uz stripa kā tumši sarkana līnija.

Būtība

Fēcū paraugs jāatšķaida ar dilūcijas buferi, kurš ir komplektā. Nitrocelulozes membrāna ir sensitivizēta ar antivielām pret Giardia lamblia cistu membrānu antigēnu. Testa būtība ir nodrošināta ar specifiskām antivielām pret Giardia lamblia cistu membrānu antigēnu, kuras ir saistītas zelta kolloīdā. Konjugāts ir nešķīstošs poliestera membrānā.

Uzpilinojot 4 pilienu atšķaidīto fēcū suspensiju, šķīstošie konjugāti migrē pasīvā difūzijā no parauga, konjugāti un parauga materiāls nonāk kontaktā ar anti-Giardias antivielām, kas ir absorbētas nitrocelulozes membrānā. Ja paraugs satur G. lamblia cistas, veidojas antigēna – antivielas jeb konjugāta-cistu komplekss, kurš paliek piesaistīts pie anti-Giardias reaģenta. Rezultāts 15 minūšu laikā ir redzams uz stripa kā tumši sarkana līnija. Šķīdums turpina migrēt un sastopoties ar otro reaģentu (anti-cāļa IgG), kurš saista atlikušo konjugātu, tādējādi, veidojot otro tumši sarkano līniju.

3. Reāģenti

Katrs Giardia –Kasešu (C-1513) komplekts CORIS BioConcept satur:

1. Giardia- kasetes 20 gab.

Katra kasete ir sensitīvs ar anti-Giardia antivielām, kuras ir specifiskas pret Giardia lamblia cistu membrānu antigēnu un kazas anti-cāļu IgG antivielām. Šie reāģenti ir attīrīti no proteīna G un absorbēti uz nitrocelulozes. Anti-Giardias konjugāti veidojās, izmantojot antivielas tieši pret cistu membrānu antigēnu un savienojot uz zelta kolloīda daļiņas, kas ir attīrītas no proteīna A. Katra kasete ir iepakota atsevišķā iepakojumā.

2. Buferis fēcū atšķaidīšanai – 20 fekālā parauga sistēmas 2 ml ar parauga paņemšanas skrūvi.

Sāls buferis pH = 7,5 Tris, EDTA, Na N3 < 0,1 %, Deterģents, Uzlādēti, bloķējošie proteīni

3. Papildus nepieciešamie materiāli

Papildus ieteicamā kontrole Giardia pozitīvā vai negatīvā kontrole.

4. Lietošanas instrukcija.

4. Reāģentu uzglabāšana

Uzglabā 4-30° C temperatūrā. Derīguma termiņš norādīts uz iepakojuma.

Pēc atvēršanas, kasete jāizmanto nekavējoši.

5. Piesardzībai

-Visa darbība jāveic saskaņā ar Labu Laboratorijas Praksi.

- Giardia Lamblia jāizmanto tikai *in vitro* diagnostikai.
- Izvairīties no nitrocelulozes aiztikšanas ar pirkstiem.
- Strādājot ar paraugiem, izmantot cimdus.
- Izmantotos cimdus, svābus, testa stobriņus, stripus iznīcināt saskaņā ar saviem utilizācijas noteikumiem.
- Neizmantot reaģentus no citiem iepakojumiem.
- Iepakojumus kasetēm atvērt uzmanīgi.
- 2 zaļās līnijas norāda uz imunoreaģentu absorbcijas vietām. Augšējā līnija ir migrējošā kontroles līnija un apakšējā līnija ir Giardia lamblia testa līnija. Zaļā krāsa izzūd testēšanas reakcijas laikā.
- Ja dilūcijas buferis ir kontaminēts ar baktērijām vai ar pelējuma sēnīti, iznīcināt to.
- Reaģentu kvalitāte netiek garantēta pēc norādītā derīguma termiņa vai arī, ja reaģenti netiek uzglabāti atbilstošos apstākļos.

6. Paraugi

Fekāliju paraugs ir jāizmeklē drīz pēc tā savākšanas. Ja ir nepieciešams, tad uzglabā pie 2-8°C 1 nedēļu vai -20°C ilgāku laika periodu. Pārliecinieties, ka paraugi netiek apstrādāti ar šķīdumiem, kas satur formaldehīdus vai tā derivātus.

7. Darba gaita

Ja testa iepakojums ir uzglabāts pie 4°C, tad ļaut pirms testēšanas reaģentiem sasilt istabas temperatūrā. Identificēt testa stobriņu, skatoties no atnestā parauga stobriņa. Novietot atzīmēto stobriņu statīvā. Izņemt kaseti no iepakojuma (viena kasete uz pacientu) un arī identificēt.

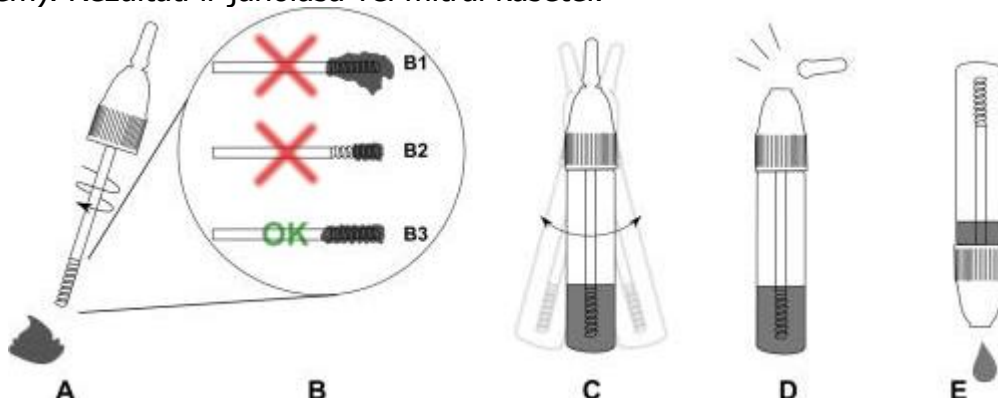
Parauga sagatavošana testēšanai ar fekālā parauga sistēmu:

1) Atvērt vienu pacienta fekālā parauga gatavo stobriņu un izmantojot paņemšanas skrūvi paņemt paraugu (zīmējums A) fēces un ienes stobriņā (zīmējums B). Tas ir atkarīgs no fekālā parauga konsistences: ja paraugs ir biezs, nepieciešams mazāk parauga – 1 reizi ienest, ja paraugs šķidrāks – vajag vairāk parauga. Šķidru vai daļēji šķidru paraugu paņemt 80mkl ar pipeti, kuras nav komplektā un ieliet gatavajā stobriņā ar buferi.

2) Ievieto skrūvi stobriņā un aizskrūvē. Homogenizē sagāžot stobriņu (zīmējums C), ienestajam paraugam ir jāizšķīst šķīdumā.

3) Nolauž stobriņa galu (zīmējums D) un uzpilina 4 pilienus šķiduma parauga lauciņā, turot stobriņu vertikāli (zīmējums E).

4) Atstāj reakcijas norisei uz 15 minūtēm. (Izteikti pozitīvi rezultāti jau nosakāmi pēc 1 - 3 minūtēm). Rezultāti ir jānolasa vēl mitrai kasetei.



8. Rezultātu interpretācija

Nolasa rezultātus un atzīmē darba protokolā (lapā):

Viena līnija (augšējā-kontrollīnija) = negatīvs

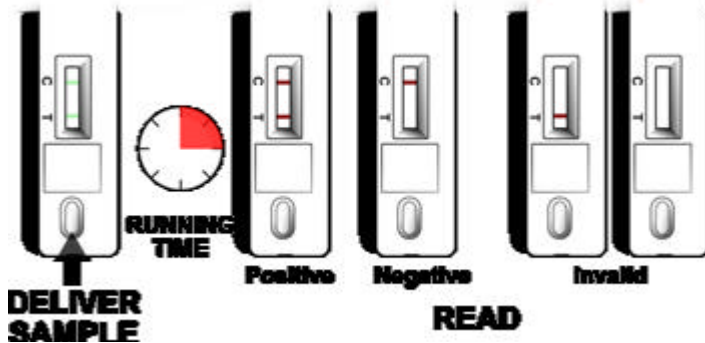
Giardia K-SeT

Divas līnijas

= pozitīvs

Nav kontollīnijas

= kļūdaina analīze



9. Kvalitātes kontrole - References materiāli

Iesaka izmantot Giardia positive control (Kat. Nr. C-1093), kurā ir jāiemērc strips. Katra pozitīva kontrole ir jāatšķaidā ar atšķaidīšanas buferi 2 reizes.

10. Raksturojums – noteikts uz Giardia striepiem

A. Noteikšanas sliekšnis:

Noteikšanas robeža ir nosakāma atšķaidot šķīdumā (625000 cystas/mL) un tad rezultāti rāda, ka ir atrastas 1302 cistas testā (120 µL).

B. Sensitivitāte – Specifitāte (Korelācija):

1) Tika izmeklēti 100 fekālie paraugi. Rezultāti tika salīdzināti ar ICT izmeklēšanu.

ICT Giardia Strips	Pozitīvi	Negatīvi	Kopā
Pozitīvi	43	0	43
Negatīvi	5	52	57
Kopā	48	52	100

Jūtība: 89,6 % (43/48)

Specifitāte: 100 % (52/52)

Precizitāte: 95% (95/100)

Pozitīva iepriekš noteikta: 100 % (43/43)

Negatīva iepriekš noteikta: 91,2 % (52/57)

2) Tika izmeklēti 382 fekālie paraugi Nacionālā Parazitoloģijas References centrā Francijā. Rezultāti tika apstiprināti ar mikroskopisko izmeklēšanu.

Mikroskopija Giardia Strips	Pozitīvi	Negatīvi	Kopā
Pozitīvi	67	7	74
Negatīvi	3	305	308
Kopā	70	312	382

Jūtība: 95,5 % (67/70)

Specifitāte: 97,8 % (305/312)

Precizitāte: 97,4% (372/382)

Pozitīva iepriekš noteikta: 90,5% (67/74)

Negatīva iepriekš noteikta: 99 % (305/308)

C. Atkārtamība

Pārbaudot viena lota precizitāti, tika testēti daži pozitīvi paraugi 15 reizes, vienādos apstākļos. Visi rezultāti sakrita ar gaidītajiem.

Pārbaudot dažādu lotu precizitāti, daži pozitīvi paraugi tika testēti ar 3 dažādām reaģentu sērijām. Visi rezultāti sakrita ar gaidītajiem.

11. Ietekmējošie faktori

Nelietot reaģentus no cita komplekta.

Neaizskārt nitrocelulozi ar pirkstiem.

- Iespējama viltus pozitīva reakcija, jo Staphylococcus aureus (koncentrācijās 10x8-10x9 cfu/mL) dod krustenisku reakciju.

- Giardia lamblia cistu koncentrācija zemos titros, kas ir zem testa jūtības robežas, dod negatīvu rezultātu.

Giardia K-SeT

Krusteniskās reakcijas pozitīvajiem paraugiem tika atrastas ar sekojošiem patogēniem un atrasti negatīvi: *Acinetobacter lwoffii*, *Aeromonas hydrophila*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *Yersinia enterocolitica* 01, *Yersinia enterocolitica* 09, *Escherichia hermannii*, *E. coli* 0117:H7, *E. coli* 055:H7, *E. coli* 0157 (EH 431), *E. coli* 0157:H19, *E. coli* 07:H1, *E. coli* 0116H-, *Rotavirus*, *Adenovirus*, *Cryptosporidium*, K99, *Salmonella enteritidis*, *Brucella abortus*.

12. Testa ierobežojumi

Pozitīvs tests neizslēdz iespēju, ka arī cits patogēns ir klātesošs paraugā.

Giardia strips ir hroniskās un akūtās fāzes skrīninga tests. Ja paraugs ir atrasts kā negatīvs, lai gan klīnika ir novērojama, nākamā analīze var apstiprināt rezultātu.

13. Literatūras atsauces

1. Marston, B.J., HB Lipman, R.F. Breiman. Surveillance for Legionnaires' Disease :risk factors for morbidity and mortality. Arch. Intern. Med. 1994; 154:2417-2422.
2. Kohler, R.B. Antigen detection for the rapid diagnosis of *Mycoplasma* and *Legionella pneumoniae*. Diagn. Microbiol. Infect Dis. 1988; 4:47S-59S.
3. Stout, JE, V.L. Yu. Legionellosis. New Eng.J. of Medecine. 1993;16:741-9.
4. Roig, J., X. Aquiler, J. Ruiz, et al. Comparative study of *Legionella pneumophila* and other nosocomial-acquired pneumonia. Chest. 1991; 99:344-50.

IFU-5813/T1/01

Pēdējo reizi pārbaudīts – Janvārī 2011

Ražotājs:

CORIS BIOCONCEPT

Science Park – CREALYS Tel : +32(0)81.719.917

Rue Jean Sonet 4 Fax : +32(0)81.719.919

B – 5032 GEMBLoux

E-mail : info@corisbio.com

BELGIUM

<http://www.corisbio.com>

SIA "MEDILINK" tulkojums no oriģinālās ražotāja instrukcijas IFU-5813/T1/01

Tulkoja Anda Plakane p.k. 221066 - 11828

2011. gada 19. aprīlī