

ProSpecT DE

Astrovirus Mikrotiterplatten-Assay

REF R240196.. ▽ ..96 Tests

1. ANWENDUNGSBEREICH

Beim ProSpecT™ Astrovirus handelt es sich um ein verstärktes Enzymimmunoassay für den Nachweis des Astrovirus in humanen Stuhlproben.

2. ZUSAMMENFASSUNG

Bei Astroviren (aus der Familie der Astroviridae) handelt es sich um kleine (28 nm), runde, positiv-strängige RNA-Viren, die sich besonders durch ihr sternförmiges Aussehen auszeichnen^{1,2}. Bisher wurden mindestens acht humane Serotypen identifiziert³.

Astroviren werden mittlerweile weltweit als häufige Ursache für die virale Gastroenteritis unter Kleinkindern angesehen^{3,4}. Die Inkubationszeit liegt zwischen 3 und 4 Tagen und die Symptome dauern für etwa 2 bis 3 Tage an, sie können bei immuninkompetenten Patienten jedoch bis zu 12 Tage und bei immuninkompetenten Patienten deutlich länger anhalten. Jüngste Veröffentlichungen weisen darauf hin, dass die Inzidenzrate von Astrovirusinfektionen aufgrund unzureichender diagnostischer

Methoden u. U. deutlich unterschätzt wurde. In diesen Studien wird die Annahme aufgestellt, dass Astroviren nach dem Rotavirus die zweithäufigste Ursache für die virale Gastroenteritis unter Kindern und nach Salmonella sp. und dem Rotavirus der drithäufigste Krankheitsreger bei ambulant erworbener Diarrhö sind^{5,6,7}. Astroviren werden mit Gastroenteritis-Epidemien in Krankenhäusern, Familien, Gemeinden und Instituten für Erwachsene in Verbindung gebracht. In Japan wurde zudem von großen Epidemien berichtet, die durch die Nahrung übertragen wurden^{8,9}.

Bis vor kurzem wurden Astrovirusinfektionen generell mittels Elektronenmikroskopie (EM) diagnostiziert. Für die Elektronenmikroskopie sind Proben in einem guten morphologischen Zustand und qualifizierte Bediener erforderlich. Da jedoch nur etwa 10 % der Astrovirusteilchen die charakteristische sternartige Morphologie aufweisen, gestaltet sich der Nachweis häufig schwierig und es können Fehldiagnosen auftreten^{10,11}. Zudem lassen sich Astroviren wegen ihrer geringen Größe häufig nicht als solche identifizieren, und sie können mit anderen kleinen, runden Viren verwechselt werden. Aus diesen Gründen hat die mittels Elektronenmikroskopie bestimmte Morphologie als einziges diagnostisches Kriterium zu einer unterschätzten Inzidenzrate dieses Virus geführt. Trotz Verbesserungen der Kulturverfahren^{12,13} konnten sich diese aufgrund ihrer unzureichenden Empfindlichkeit nicht als ideales Verfahren für die Routinediagnose durchsetzen. Zu den jüngsten Entwicklungen in den diagnostischen Verfahren gehören die Dot-Blot-Hybridisierung, PCR und EIA^{11,14,15}. Die Verfügbarkeit von spezifischen Antisera, die gegen gruppen-, gattungs- oder typspezifische Epitope gezüchtet wurden, hat die Entwicklung

von Immunoassay für den direkten Antigennachweis möglich gemacht¹⁵. Es hat sich gezeigt, dass diese Assays im Vergleich zur Elektronenmikroskopie eine höhere Empfindlichkeit bieten und eine wirtschaftlichere, zuverlässigere und schnellere Screening-Methode darstellen⁷.

Eine neue Generation verstärkter Immunoassays, in der Markierungs- und Signalverstärkungstechnologien zum Einsatz kommen, hat im Vergleich zu Methoden mit molekularer Amplifizierung jüngst ihre überlegene Empfindlichkeit unter Beweis gestellt^{16,17}.

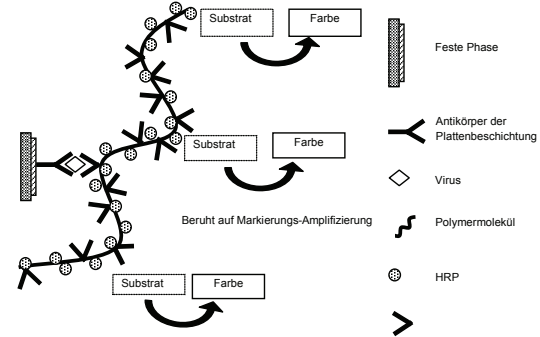
Beim ProSpecT Astrovirus-Test handelt es sich um einen verstärkten Enzymimmunoassay für den schnellen Nachweis des Astrovirus in humanen Stuhlproben. Der Test beruht auf einer Kombination aus gattungsspezifischen, monoklonalen und polyklonalen Antikörpern, die in Verbindung mit Markierungs-Amplifizierung den Nachweis aller bekannten Stämme humaner Astroviren in Immunoassays auf Mikrotiterplattenbasis ermöglichen.

3. TESTPRINZIP

Der ProSpecT Astrovirus Mikrotiterplatten-Assay arbeitet zur Detektion von Astrovirus-Antigenen mit einem polyklonalen Antikörper und einem Dextranpolymer-Konjugat mit einem hohen Gehalt an Enzym- und Antikörpermolekülen in einem Enzymimmunoassay fester Phase. Die abbrechbaren Kavitäten sind mit einem gattungsspezifischen, polyklonalen Astrovirus-Antikörper beschichtet. Die Stuhlsuspension wird in die Kavität gegeben und das in der Probe vorliegende Astrovirus-Antigen wird an die feste Phase gebunden. Der dextran-konjugierte, gattungsspezifische, monoklonale Antikörper wird an das

Astrovirus-Antigen der festen Phase gebunden, wobei der Konjugat-Polymer-Komplex, der mehrere Enzymmoleküle enthält, gebildet wird (Markierungs-Amplifizierung). Das gebundene Enzym wird mit Hilfe eines Chromogens detektiert, wobei es zu einer Farbänderung kommt, die durch die Zugabe von Säure gestoppt wird. Eine Farbintensität, die sich deutlich von der Hintergrundfärbung unterscheidet, zeigt die Gegenwart des Astrovirus-Antigens in der Probe an.

Schematische Abbildung des Funktionsprinzips des ProSpecT Astrovirus-Tests



4. SYMBOLDEFINITIONEN

Die folgenden Symbole werden in der Produktinformation verwendet.

REF	Produktcode und Bestellnummer
	Gebrauchsanleitung beachten
▽ N	Inhalt ausreichend für „n“ Tests
	Hersteller
IVD	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Verwendbar bis
LOT	Chargenbezeichnung
	Zulässiger Temperaturbereich

5. INHALT

▽ 96 - Jedes Kit enthält Material für 96 Bestimmungen. - Die Haltbarkeit des Kits ist auf der Umverpackung angegeben.

Alle Komponenten bei 2...8°C lagern.

Vor dem Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20...25 °C) bringen und vorsichtig mischen. Nach dem Gebrauch alle nicht genutzten Reagenzien bei 2...8 °C lagern.

Mit Ausnahme des Waschpuffers werden alle Reagenzien gebrauchsfertig geliefert. Wenn die Reagenzien zur Verwendung

mit Mehrkanalpipetten ausgegossen werden, das überschüssige Reagens nicht wieder in die Flasche zurückführen.



Gebrauchsanweisung
Vollpipetten
Mikrotiterplatten-Abdeckung
Inhaltszertifikat
Kurzanleitung

MICROTITRATION PLATE

Eine 96-Kavitäten-Mikrotiterplatte mit zwölf abbrechbaren 8-Kavitäten-Teststreifen, die mit einem astrovirus-spezifischem polyklonalem Antikörper von Kaninchen beschichtet sind.

Für die Lagerung ungenutzter Kavitäten liegt ein wiederverschließbarer Beutel mit Trockenmittel bei. Die Teststreifen können nach dem ersten Öffnen 16 Wochen lang verwendet werden, vorausgesetzt, sie werden fachgerecht im Beutel aufbewahrt.

Jeweils eine Flasche der folgenden Reagenzien:

SAMPLE DILUENT

120 ml Probenverdünnung: Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit antimikrobiellem Mittel und rotem Farbstoff

CONTROL +

4 ml Positivkontrolle: inaktivierter Astrovirus, Typ 1 (nicht infektiöses rekombinantes Protein) in Puffer mit antimikrobiellem Mittel

CONTROL -

4 ml Negativkontrolle: Tris-gepufferte Kochsalzlösung mit antimikrobiellem Mittel und rotem Farbstoff

CONJUGATE

12 ml Polymerkonjugat: astrovirus-spezifischer monoklonaler Antikörper, der mit Meerrettich-Peroxidase-Molekülen auf einer Dextranpolymer-Hauptkette konjugiert ist, in einer gepufferten Proteinlösung mit antimikrobiellem Mittel und blauem Farbstoff

WASH BUFFER (X10)

120 ml Waschpufferkonzentrat (10fach): phosphatgepufferte Lösung mit antimikrobiellem Mittel und Detergenz

Das 10fach-Waschpufferkonzentrat durch die Zugabe von 1 Teil Konzentrat auf 9 Teile destilliertes oder deionisiertes Wasser verdünnen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei Lagerung bei 2...8 °C

SUBSTRATE TMB

12ml Substrat: 3,3'-5,5'-Tetramethylbenzidin in einem leicht sauren Puffer

STOP SOLUTION

12 ml Stopplösung: 0.46 mol/l Schwefelsäure

6. VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD Nur zur *In-vitro*-Diagnostik. Personen, die Tests mit diesem

Produkt durchführen, müssen in die Durchführung eingewiesen sein und über entsprechende Laborerfahrung verfügen.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem Sicherheitsdatenblatt oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSMASSNAHMEN

- Die Positivkontrolle enthält rekombinante Proteine des Astrovirus, Typ 1, die wie potenziell infektiöses Material gehandhabt und entsorgt werden müssen.
- Die Stopplösung enthält Schwefelsäure (0.46 mol/l).
- Der Waschpuffer enthält Hautreizstoffe (<1 % v/v). Hautkontakt vermeiden. Einweg-Schutzhandschuhe aus Vinyl oder Nitril tragen.
- Essen, Trinken, Rauchen, Aufbewahren und Zubereiten von Speisen sowie Schminken sind im entsprechend ausgewiesenen Arbeitsbereich verboten.
- Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren.
- Beim Umgang mit klinischen Proben und Reagenzien Einweghandschuhe tragen. Nach dem Arbeiten mit infektiösen Materialien immer die Hände waschen.
- Alle klinischen Proben müssen entsprechend den geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgt werden.
- Die ProSpecT Astrovirus-Reagenzien enthalten ein herstellereigenes antimikrobielles Mittel, das bei Beachtung der normalen Sicherheitsvorkehrungen für das

Arbeiten im Labor keine Gefahr für den Anwender darstellt.

ANALYTISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

6.9. Die Testkit-Komponenten dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten vermerkten Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Die folgenden Reagenzien dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden, da dies die Leistungsfähigkeit des Tests beeinträchtigen könnte: Platte, Konjugat und Kontrollen.

6.10. Die folgenden allgemeinen Reagenzien können in der ProSpecT-Serie produktübergreifend verwendet werden: Waschpuffer, TMB-Substrat und Stopplösung.

6.11. Kontamination der Reagenzien muss vermieden werden.

6.12. Bei Verwenden von Tropfflaschen sicherstellen, dass alle Kontrollen und Reagenzien auf die gleiche Art und Weise zugesetzt werden. (Die Leistungsfähigkeit des Kits kann beeinträchtigt werden, wenn eine Kombination aus Pipettierverfahren und Tropfflasche eingesetzt wird.)

6.13. Für jede einzelne Probe, Kontrolle und Reagenz frische Einmalpipetten oder Pipettenspitzen benutzen (falls keine Tropfflasche verwendet wird), um Kreuzkontaminationen von Proben, Kontrollen oder Reagenzien zu vermeiden. Kreuzkontaminationen können zu falschen Ergebnissen führen.

6.14. Um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden, ist zum Verdünnen von Reagenzkonzentraten genutztes deionisiertes oder destilliertes Wasser in sauberen Behältern aufzubewahren.

6.15. Kontamination mit Metallionen und Oxidationsmitteln vermeiden.

6.16. Substrat, das vor der Zugabe in die Kavitäten eine blaue Färbung aufweist, darf nicht verwendet werden.

6.17. Konjugat und Substrat vor Licht schützen.

6.18. Kavitäten dürfen nicht wiederverwendet werden.

6.19. Nicht verbrauchter Waschpuffer in Arbeitskonzentration kann bei 2...8 °C maximal 30 Tage lang für den zukünftigen Gebrauch gelagert werden. Nicht benötigte Waschpuffergefäße mit deionisiertem oder destilliertem Wasser waschen und trocken lassen.

6.20. Waschorrichtungen, einschließlich automatischer Geräte, dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein. Sie müssen korrekt geeicht sein und entsprechend den Herstelleranleitungen gehandhabt werden.

6.21. Bei der Verwendung von Tropfflaschen die Flasche vertikal halten, so dass die Öffnung etwa 5 mm über der Kavität steht. Die Flasche vorsichtig drücken und sicherstellen, dass die Tropfen ungehindert in die Kavitäten fallen können, ohne dabei die Seiten der Kavitäten zu berühren. Ein Kontamination der Tropferöffnungen ist stets zu vermeiden.

7. ENTNAHME VON STUHLPROBEN

Stuhlproben sollten nach dem Einsetzen der Symptome so früh wie möglich entnommen werden.

Stuhlproben für direkte Tests sind in Behälter zu geben, die kein Medium, keine Konservierungsmittel, tierischen Seren, Metallionen, Oxidationsmittel oder Detergenzien enthalten,

da alle diese Zusatzstoffe den ProSpecT Astrovirus-Test beeinträchtigen können.

Falls Rektalabstriche gewonnen werden, müssen diese genügend Stuhlmaterial enthalten, um eine 10%ige Stuhlsuspension zu erhalten (siehe Abschnitt 8).

Proben können vor dem Test 8 Tage lang bei 2...8 °C gelagert werden. Die Langzeitlagerung von Stuhlproben ist bei -20 °C möglich.

8. VORGEHENSWEISE

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe „Inhalt“ in Abschnitt 5

ERFORDERLICHE, ABER NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Behälter für die Entnahme von Stuhlproben

Saubere Einwegbehälter mit Schraubverschluss (mindestens 3 ml Fassungsvermögen) für die Vorbereitung von Stuhlproben

Sauberes saugfähiges Papier (zum Abklopfen der Mikrotiterplatten)

Präzisions-Mikropipetten mit Einwegspitzen für 50 µl, 100 µl und 1000 µl

Abfallbehälter mit geeignetem frischem Desinfektionsmittel

Stoppuhr

Waschflasche für Waschpuffer

Destilliertes oder deionisiertes Wasser

OPTIONALE, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Lesegerät für Mikrotiterplatten für den Betrieb bei 450 nm (optional mit einer Referenz bei 620 - 650 nm)

Vortexmischer mit Plattenadapter oder Plattenschüttler/ Inkubator

Waschautomat für Mikrotiterplatten oder geeignete Ausrüstung für das Waschen von Teststreifen mit 8 Kavitäten

VORGEHENSWEISE

8.1. Den Beutel öffnen, die erforderliche Anzahl von Teststreifen entnehmen und in einen Teststreifenhalter geben. Eine Kavität für die Negativkontrolle und eine weitere für die Positivkontrolle verwenden. Wenn weniger als 8 Kavitäten benötigt werden, die erforderliche Anzahl von Kavitäten abbrechen und die nicht benötigten Kavitäten wieder in den Beutel mit Trockenmittel geben. DEN BEUTEL WIEDER FEST VERSCHLIESSEN, UM DEN INHALT VOR FEUCHTIGKEIT ZU SCHÜTZEN UND WIEDER BEI 2...8 °C LAGERN.

VERDÜNNUNG DER STUHLPROBEN

1 ml Probenverdünnung in einen entsprechend gekennzeichneten Behälter geben und damit eine 10%ige Suspension oder Verdünnung der Stuhlprobe herstellen, indem etwa 0.1 g fester Stuhl (kleine erbsengroße Portion) oder etwa 100 µl flüssiger Stuhl mit einer Vollpipette hinzugegeben wird. Gründlich mischen und die Vollpipette für den weiteren Gebrauch im Behälter lassen.

Rektalabstriche in 1 ml Probenverdünnung drehen und den Abstrich dabei gegen die Behälterwand drücken, um das Stuhlmaterial herauszudrücken. Gründlich mischen.

Zuvor in Formalin konservierte Stuhlsuspensionen vor dem Test mit ProSpecT Astrovirus-Probenverdünnung auf eine 10%ige

Stuhlsuspension verdünnen.

Mit ProSpecT Astrovirus-Probenverdünnung suspendierte bzw. verdünnte Proben können vor dem Test bei

2...8 °C bis zu 8 Tage lang gelagert werden.

HINWEIS: In ProSpecT Adenovirus, ProSpecT Rotavirus und ProSpecT Norovirus Probenverdünnung vorbereitete Proben können ebenfalls mit dem ProSpecT Astrovirus-Assay getestet werden. Andere Probenverdünnungen wurden nicht auf ihre Eignung geprüft.

8.2. Jeweils 2 Tropfen (oder 100 µl) verdünnte Probe, Negativkontrolle oder Positivkontrolle in unterschiedliche Kavitäten geben. In jede Testreihe sollte mindestens eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle eingeschlossen werden.

8.3. Nach der Zugabe aller Proben und Kontrollen mit einer Mikropipette 100 µl Konjugat in jede Kavität geben und 20 bis 30 Sekunden lang vorsichtig mischen.

8.4. Die Platte abdecken und bei 20...30 °C 60 +/- 5 Minuten lang inkubieren.

8.5. Den Inhalt durch Schütteln oder Absaugen aus den Kavitäten entfernen. Alle Kavitäten mit verdünntem Waschpuffer (~350 bis 400 µl pro Kavität) gründlich waschen. Die gesamte Flüssigkeit nach dem Waschen durch Schütteln oder Absaugen aus den Kavitäten entfernen. Insgesamt 5 Mal waschen. Den Inhalt der Platte nach dem letzten Waschvorgang durch Ausklopfen auf sauberem Papier oder Absaugen entfernen. Bei Verwendung eines Waschautomaten diesen auf 5 Waschzyklen

programmieren. Waschautomaten müssen richtig kalibriert sein, um sicherzustellen, dass die Kavitäten bei jedem Waschvorgang vollständig gefüllt und entleert werden. Die Platte nach dem letzten Waschvorgang umdrehen und auf saugfähigem Papier abklopfen, um Reste des Waschpuffers zu entfernen.

8.6. 2 Tropfen (oder 100 µl) Substrat in jede Kavität geben.

8.7. Die Platte abdecken und bei 20...30 °C 10 Minuten lang inkubieren.

8.8. Die Kavitäten können sofort nach der zweiten Inkubation visuell ausgewertet werden (siehe Abschnitte 9 und 10).

8.9. Als Alternative die Substratreaktion stoppen, indem 2 Tropfen (oder 100 µl) Stopplösung in jede Kavität gegeben werden. Darauf achten, dass die Kavitäten vor dem Ablesen der Ergebnisse gründlich gemischt werden. Die Färbung ist nach der Zugabe der Stopplösung 30 Minuten lang stabil.

8.10. Spektrophotometrisch bei 450 nm auswerten (siehe Abschnitte 9 und 10).

9. QUALITÄTSKONTROLLE

Bei jeder Testausführung muss mindestens eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle eingeschlossen werden.

VISUELLE BESTIMMUNG

Alle Kavitäten mit Negativkontrolle müssen farblos sein. Wenn dies nicht der Fall ist, dürfen die Testergebnisse nicht visuell ausgewertet werden.

Die Kavität mit der Positivkontrolle muss eine deutliche blaue Färbung aufweisen, die sie von der Negativkontrolle klar unterscheidet.

SPEKTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG

Der Wert der Negativkontrolle oder der Mittelwert aus den Werten der Negativkontrolle darf nicht mehr als 0.150 Absorptionseinheiten betragen.

Der Wert der Positivkontrolle muss über 0.500 Absorptionseinheiten liegen.

10. ERGEBNISSE

VISUELLE BESTIMMUNG

Allen Proben, deren blaue Färbung intensiver ist als die der Negativkontrolle, sind positiv. Alle Proben, deren Färbung gleich oder weniger intensiv ist als die der Negativkontrolle, sind negativ. Kavitäten, in denen sich die Farbindensität beim Vergleich mit der Negativkontrolle nur schwer auswerten lässt, müssen nach der Zugabe von Stopplösung photometrisch ausgewertet werden.

SPEKTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG

10.1. Die Kavitäten müssen innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe von Stopplösung photometrisch ausgewertet werden.

10.2. Den Inhalt der Kavitäten mischen und die Absorption jeder Kavität spektrophotometrisch bei 450 nm bestimmen. Vor der Messung sicherstellen, dass der Boden der Kavitäten sauber ist. Vor der Messung der Platte einen Leerwert gegen Luft bestimmen.

10.3. Wenn das Spektrophotometer die Messung einer Referenzwellenlänge (zwischen 620 und 650 nm) ermöglicht, ist eine Messung an zwei Wellenlängen durchzuführen.

10.4. Den Cut-off-Wert berechnen, indem der Wert der Negativkontrolle oder der Mittelwert aus mehreren Negativkontrollen um 0.100 Absorptionseinheiten erhöht wird.

10.5. Die Testergebnisse auswerten:

Positiv: Absorptionswert der klinischen Probe > Cut-off-Wert

Negativ: Absorptionswert der klinischen Probe < Cut-off-Wert

Nicht eindeutig: Absorptionswert der klinischen Probe liegt 0.010 Absorptionseinheiten innerhalb des Cut-off-Werts. Diese Proben müssen neu getestet oder vom Patienten neu entnommen werden.

11. GRENZEN DER METHODE

11.1 Die Gültigkeit der Ergebnisse, die mit dem ProSpecT Astrovirus Mikrotiterplatten-Assay erhalten werden, hängt vom Verlauf der Kontrollreaktionen ab. Weitere Informationen hierzu unter „Qualitätskontrolle“ in Abschnitt 9.

11.1. Durch ein negatives Ergebnis kann die Möglichkeit einer Astrovirusinfektion im Patienten nicht ausgeschlossen werden. Wenn das Astrovirus nicht nachgewiesen werden

kann, gibt es dafür mehrere mögliche Ursachen. Dazu gehören die Entnahme der Probe zu einem falschen Zeitpunkt, wenn zu wenige Virionen vorhanden sind, Fehler bei der Probenahme oder unsachgemäße Handhabung der Proben.

11.2. Mit dem ProSpecT Astrovirus-Test werden gattungsspezifische Virusproteine in humanen Astrovirus-Serotypen nachgewiesen. Der Test kann nicht zur Unterscheidung von Astrovirus-Serotypen oder zum Nachweis nicht humaner Astrovirus-Serotypen verwendet werden.

11.3. Die Reagenzien werden in festen Arbeitskonzentrationen bereitgestellt. Die Leistung des Tests wird beeinträchtigt, wenn die Reagenzien modifiziert oder unter anderen als den in Abschnitt 5 beschriebenen Bedingungen gelagert werden.

11.4. Der Einsatz des ProSpecT Astrovirus Mikrotiterplatten-Assays für direkte Tests an anderen Proben als Stuhlproben wird nicht empfohlen, da die Gegenwart unzureichender Antigenmengen oder eine fehlerhafte Probenahme zu falsch negativen Ergebnissen führen kann. Ein positives Ergebnis in Stuhlproben weist in Verbindung mit Durchfall mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine astrovirale Gastroenteritis hin.

11.5. Durch ein positives Ergebnis kann die Gegenwart anderer enterischer Pathogene nicht ausgeschlossen werden. Die Verbindung zwischen Astrovirus und Gastroenteritis gilt zwar als gesichert^{3,4}, eine gleichzeitige Infektion mit anderen mikrobiellen Krankheitserregern ist jedoch möglich.

11.6. Mekoniumproben wurden für den Gebrauch mit dem ProSpecT Astrovirus Mikrotiterplatten-Assay nicht untersucht.

11.7. Die Testergebnisse müssen in Verbindung mit epidemiologischen, klinischen und anderen diagnostischen Daten für den Patienten ausgewertet werden.

12. ERWARTETE WERTE

Die Positivitätsrate ist abhängig von der Prävalenz des Astrovirus in den verschiedenen Populationen, der geographischen Lage, der Probenahme, dem verwendeten Zellkultursystem sowie der Handhabung, Lagerung und dem Transport der Proben. Auch die allgemeine Gesundheitsversorgung der untersuchten Patientenpopulation ist diesbezüglich von Bedeutung.

Das Astrovirus ist weltweit verbreitet und seine Aktivität erreicht den Höhepunkt im Winter/Frühjahr in Regionen mit gemäßigtem Klima^{18,19}. Insbesondere Kinder unter 1 Jahr sind betroffen und bei Kindern im Alter von 5 Jahren konnten in 80 % der Fälle serologische Beweise für zurückliegende Infektionen gefunden werden²⁰.

Von den acht humanen Serotypen ist Typ 1 in Großbritannien am weitesten verbreitet (>60 %) und es gibt Hinweise darauf, dass sich die Prävalenz dieses Typs von Jahr zu Jahr abwechselnd erhöht und verringert²¹. Doppelinfektionen mit anderen enterischen Krankheitserregern, insbesondere dem Rotavirus, kommen häufig vor²².

13. LEISTUNGSDATEN

KLINISCHE STUDIEN

Der ProSpecT Astrovirus-Test wurde in einer unabhängigen klinischen Studie an einem Referenzzentrum in Großbritannien evaluiert.

Die Studie wurde an Stuhlproben von 94 Gastroenteritis-Patienten durchgeführt (51 Frauen, 42 Männer, 1 unbekannt, Altersbereich von 0.1 bis 88.4 Jahre). Ziel der Studie war es, die Leistungsfähigkeit des ProSpecT Astrovirus-Tests mit dem zuvor validierten IDEIA™ Astrovirus-Test zu vergleichen. Der Status positiver Proben wurde mittels Elektronenmikroskopie bestätigt.

Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 13.1 aufgeführt.

KLINISCHE LEISTUNG

Der ProSpecT Astrovirus-Test zeigte eine Sensitivität von 100 % und eine Spezifität von 98.3 %.

Tabelle 13.1 Sensitivität und Spezifität des ProSpecT Astrovirus-Test im Vergleich mit dem IDEIA Astrovirus-Test

		IDEIA Astrovirus	
		+	-
ProSpecT Astrovirus	+	35	1 ^a
	-	0	58
Sensitivität		100 % (35/35)	
Spezifität		98.3 % (58/59)	

^a Positives Ergebnis der Probe mittels Elektronenmikroskopie bestätigt.

PRÄZISION

Intra-Assay-Präzision

Die Intra-Assay-Präzision wurde anhand von drei Stuhlproben bestimmt, die für ein niedriges, mittleres und hohes positives Ergebnis standen. Jede Kontrolle wurde in acht Assays, die von zwei Bedienern durchgeführt wurden, 24 Mal getestet. Für die Intra-Assay-Untersuchung wurden die mittlere Absorption und der mittlere Variationskoeffizient berechnet.

Tabelle 13.2 Mittlere Intra-Assay-Präzision des ProSpecT Astrovirus-Tests

Probe	Mittlere AE	Mittlerer VK (%)
Niedrig	0.454	5.3
Mittel	0.973	4.4
Hoch	1.568	4.2

Inter-Assay-Präzision

Die Inter-Assay-Präzision wurde anhand von drei Stuhlproben bestimmt. Jede Verdünnung wurde in acht Assays getestet, die von zwei Bedienern durchgeführt wurden, und es wurden die mittlere Absorption und der mittlere Variationskoeffizient berechnet.

Tabelle 13.3 Inter-Assay-Präzision des ProSpecT Astrovirus-Tests

Probe	Mittlere AE	Mittlerer VK (%)
Niedrig	0.454	5.7
Mittel	0.973	5.1
Hoch	1.568	3.7

KREUZREAKTIVITÄT

Die folgenden Mikroorganismen wurden mit dem ProSpecT Astrovirus-Test negativ getestet. Es wurden Kreuzreaktivitätstests durchgeführt, entweder an klinischen Proben, deren mikrobieller Status bekannt war, oder an Laborkulturen bekannter Organismen, die ungefähr 10⁷-10⁸ lebensfähige Organismen pro ml enthielten. Die Herkunft der Mikroorganismen ist im Schlüssel unten angegeben:

Viren

Adenovirus^a Calicivirus^a

Rotavirus^a

Bakterien

Acinetobacter sp. *Listeria monocytogenes*

Aeromonas hydrophila *Neisseria gonorrhoea*

Bacteroides fragilis *Peptococcus sp.*

Campylobacter coli *Peptostreptococcus sp.*

Citrobacter freundii *Proteus sp.*

Clostridium difficilea *Pseudomonas aeruginosa*

Clostridium perfringens *Salmonella typhimurium*

Enterobacter cloacae *Serratia marcescens*

Enterococcus faecalis *Shigella sonnei*

Escherichia coli *Staphylococcus aureus*

Gardnerella vaginalis *Staphylococcus epidermidis*

Haemophilus influenzae *Beta-hämolytische*

Streptokokken der Gruppe A

Klebsiella sp. *Veillonella sp.*

Lactobacillus sp.

Andere Mikroorganismen

Candida albicans

Schlüssel:

^aIm Stuhl vorliegende und getestete Mikroorganismen

Alle anderen Mikroorganismen wurden in Bouillonkulturen gezüchtet und getestet.

14. LITERATURVERWEISE

1.Madeley, C.R. (1990)

Viruses associated with Acute Diarrhoeal Disease.

In Principles and Practices of Clinical Virology.

(eds A.J. Zuckerman et al.) John Wiley and Sons Ltd., 188-189.

2.Carter, M.J. (1994)

Genomic organisation and expression of astroviruses and caliciviruses.

Arch. Virol., (Suppl.) 9: 429-439

3. Walter, J.E. and Mitchell, DK (2000)

Role of Astrovirus in childhood diarrhea.

Current Opinion in Pediatrics, 12: 275-279

4.Lew, J.F., Glass, R.I., Petric, M. et al (1990)

Six year retrospective surveillance of gastroenteritis viruses identified at ten electron

microscopy centres in the United States and Canada.

Ped. Infect. Dis. J., 9: 709-714

5. Herrmann, J.E., Taylor, D.N., Echeverria P. et al (1991)

Astroviruses as a cause of gastroenteritis in children.

N. Engl. J. Med., 324: 1757-1760

6. Oliver, A.R. and Phillips, A.D. (1988)

An electron microscopical investigation of faecal small round viruses.

J. Med. Virol., 24: 211-218

7.Putzker, M., Sauer, H., Kirchner, G. and Malic, A. (2000)

Community acquired diarrhea – the incidence of astrovirus infections in Germany.

Clin. Lab., 46: 269-273

8.Utagawa, E.T., Nishizawa, S., Sekine, S., Hayashi, Y., Ishihara, Y., Oishi, I., Iwasaki, A., Yamashita, I., Miyamura, K., Yamazaki, S., Inouye, S., Glass, R.I.(1994)

Astrovirus as a Cause of Gastroenteritis in Japan.

Journal of Clinical Microbiology, 1841-1845

9. Oishi, I., Yamazaki, K., Kimoto, T., Minekawa, Y., Utagawa, E., Yamazaki, S., Inouye, S., Grohmann, G.S., Monroe, S.S., Stine, S.E., Carcamo, C., Ando, T., Glass, R.I. (1994)

A large Outbreak of Acute Gastroenteritis Associated with Astrovirus among Students and Teachers in Osaka, Japan.

Journal of Infectious Diseases, 170: 439-443

10.Willcocks, M.M., Carter, M.J. and Madeley, C.R. (1992)

Astroviruses

Reviews. Med. Virol., 2: 97-106

11. Willcocks, M.M., Carter, M.J., Silcock, J.G., and Madeley, C.R. (1991)

A dot-blot hybridisation procedure for the detection of astrovirus in stool samples.

Epidemiol. Infect., 107: 405-410

12.Lee, T.W. and Kurtz, J.B. (1981)

Serial Propagation of astrovirus in Tissue Culture with the Aid of Trypsin.

J. Gen. Virol., 57: 421-424

13. Willcocks, M.M., Carter, M.J., Laidler, F.R., and Madeley, C.R. (1990)

Growth and characterisation of human faecal astrovirus in a continuous cell line.

Arch. Virol., 113: 73-81

14. Jonassen, T.O., Kjeldsberg, E. and Grinde, B. (1993)

Detection of human astrovirus serotype 1 by the polymerase chain reaction.

J. Virol. Methods., 44: 83-88

15. Herrman, J.E., Nowak, N.A., Perron-Henry, D.M., Hudson, R.W., Cubitt, W.D., and Blacklow, N.R. (1990)

Diagnosis of Astrovirus Gastroenteritis by Antigen Detection with Monoclonal Antibodies.

J. Infect. Dis., 161: 226-229

16. Tanaka, M., Nakayama, H., Sagiya, K., Haraoka, M., Yoshida, H., Hagiwara, T., Akazawa, K., Naito, S. (2000)

Evaluation of a new amplified enzyme immunoassay (EIA) for the detection of Chlamydia trachomatis in male urine, female endocervical swab and patient obtained vaginal swab specimens

J. Clin. Path., 5: 350-354

17. Chernesky, M., Jand, D., Copes, D., Patel, J., Petrich, A., Biers, K., Sproston, A., Kapala, J. (2001)

Comparison of a polymer conjugate-enhanced enzyme immunoassay to ligase chain reaction for diagnosis of Chlamydia trachomatis in endocervical swabs

J. Clin. Micro., 2306-2307

18. Kurtz, J.B., and Lee, T.W. (1987)

Novel diarrhoea viruses: Astroviruses: human and animal.

Willey, Chichester (Ciba Foundation Symposium 128), 92-107

19. Moe, C.L., Allen, J.R., Monroe, S.S. et al (1991)

Detection of Astrovirus in Paediatric Stool samples by Immunoassay and RNA probe.

J. Clin. Micro., 29: 2390-2395

20. Kurtz, J.B. and Lee, T.W. (1978)

Astrovirus gastroenteritis. Age distribution of antibody.

Med Microbiol. Immunol., 166: 227-230

21. Lee, T. W. and Kurtz, J. B. (1994)

Prevalence of human astrovirus serotypes in the Oxford region 1976 – 92, with evidence for two new serotypes.

Epidemiol. Infect., 112: 187-193

22. Nazer, H., Rice, S., Walker-Smith, J.A. (1982)

Clinical associations of stool Astrovirus in childhood.

J. Pediatr Gastroenterol. Nutr., 1: 555-5



Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke, Hants RG24 8PW UK

X7599B Überarbeitet Mai 2012

Für technische Unterstützung kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Händler