



IMMUNOQUICK® NoRotAdeno

Rychlý test pro *in vitro* diagnostiku, určený pro detekci antigenů Noroviru, Rotaviru a Adenoviru ve vzorcích stolice

Kat.č.:

1. Použití

IMMUNOQUICK® NoRotAdeno je rychlý imunochromatografický test pro kvalitativní detekci antigenů Noroviru, Rotaviru a Adenoviru ve vzorcích stolice.

2. Popis

Akutní gastroenteritida je stále jednou z hlavních příčin celosvětové morbidity a mortality u dětí do pěti let věku s incidencí 700 milionů případů ročně. Mortalita dosahuje 3 – 5 milionů případů ročně. Ačkoliv původci gastroenteritidy mohou být bakteriální, viroví i parazitární, mnoha studiemi byli jako hlavní příčina potvrzeni viroví původci.

Rotavirus, Norovirus a Adenovirus patří mezi běžné virové patogeny způsobující akutní gastroenteritidu u dětí. Hlavním symptomem virové gastroenteritidy je vodnatý průjem a zvracení. Napadený jedinec může trpět také bolestmi hlavy, horečkou a žaludečními křečemi. Rotavirus je přenášen oro-fekální cestou a při jeho usídlení v tenkém střevě dochází k nutriční malabsorpci. Spektrum klinických projevů rotavirové infekce zahrnuje vodnatý průjem doprovázený nevolností, anorexií, mírné zvracení nebo horečku, může ale vést až k silné dehydrataci, která může zapříčinit hospitalizaci a následně až smrt pacienta. Rotavirus způsobuje primárně infekce u dětí, ale může napadnout i dospělé jedince, u kterých vyvolává mírnější symptomy.

Adenovirus je dle dostupných studií považován po Noroviru a Rotaviru za další etiologický agens způsobující virovou gastroenteritidu. Noroviry jsou hlavní příčinou gastrointestinálních onemocnění v uzavřených prostředích, které sdružují více jedinců, jako jsou nemocnice, pečovatelské domy apod. Noroviry se běžně šíří jídlem nebo vodou kontaminovanou fekálním znečištěním. Adenovirová infekce je nejčastěji odhalena pediatry u pacientů starších dvou let.

Jelikož většina virových původců gastroenteritid nemůže být pasážována na buněčných kulturách, základním průkazem zůstává elektronová mikroskopie vzorků stolice, ačkoliv je tento průkaz limitován pouze na referenční laboratoře. Zavedení citlivějších metod na bázi imunoeseje pro zachycení antigenu ve stolici zlepšilo možnost diagnózy nově popsanych virů, jako je Norovirus.

Symptomy Norovirové infekce běžně zahrnují nevolnost, zvracení, průjem a žaludeční křeče. Někteří pacienti také mohou projevovat zvýšenou teplotu, zimnici, bolesti hlavy, křeče svalů a celkovou únavu a slabost. Onemocnění často nastupuje náhle a postižený se může cítit vážně nemocný. Ve většině případů příznaky mizí samy po 1 – 2 dnech. Infikované děti jsou celkově náchylnější je zvracení než dospělí.

3. Princip

IMMUNOQUICK® NoRotAdeno je rychlý kvalitativní, kvalitativní laterální průtokový imunoesej pro detekci antigenů Noroviru, Rotaviru a Adenoviru ve vzorcích stolice. Tento test využívá specifické monoklonální protilátky, kterými je potažena membrána testu. Během testování vzorek stolice reaguje s konjugovanými protilátkami. Směs migruje vzhůru po membráně vztláním a chromatograficky reaguje s uchycenými protilátkami. Výsledkem je barevná linie v zóně N, R nebo A. Přítomnost barevné linie v zóně N značí pozitivní výsledek

testu na Norovirus, v zóně R pozitivní výsledek na Rotavirus a v zóně A pozitivní výsledek na Adenovirus. Absence barevné linie v těchto zónách značí negativní výsledek testu.

Jako procesní kontrola slouží barevná linie v zóně C, která by se měla objevit vždy. Indikuje aplikaci dostatečného množství vzorku a adekvátní zvlhčení membrány.

4. Obsah soupravy

- Testovací kazety balené jednotlivě v sáčku s vysoušedlem
- Lahvička s roztokem pufru
- Odběrové zkumavky
- Tampóny
- Stojan na zkumavky
- Návod k použití

5. Další potřebný materiál (není součástí soupravy)

- Mikropipeta
- Stopky
- Vortex

6. Skladování a stabilita

IMMUNOQUICK® NoRotAdeno by měl být skladován při teplotě 2°- 30°C. Test je citlivý na vlhkost a teplotu. Test je stabilní do data expirace, které je vyznačeno na obalu. Kazety musí být až do jejich použití ponechány v obalu. NEZMRAZUJTE. Nepoužívejte po uplynutí data expirace, které najdete na soupravě a jednotlivých sáčcích.

7. Bezpečnostní opatření

- Pouze pro *in vitro* diagnostické použití.
- Před provedením testu by měly být vzorky a reagentie vytemperovány na laboratorní teplotu.
- Nepoužívejte test po uplynutí doby expirace. Použití testu po uplynutí doby expirace může vést k nesprávným výsledkům.
- Nepoužívejte jiné vzorky než vzorky stolice.
- Soupravu nezmrazujte. Zmrzlé soupravy nepoužívejte, přemrazení může změnit jejich kvalitu.
- Test provádějte dle přiloženého návodu k použití.
- Testovací kazetu vyjmete z obalu těsně před provedením testu (souprava je citlivá na vlhkost).
- Při práci se vzorky a reagentiemi nejezte, nepijte, ani nekuřte.
- Zabraňte možnému potřísnění a vzniku aerosolu.
- Vlhkost a nesprávná teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Test je určen pouze na jedno použití. Nepoužívejte opakovaně. Zabraňte zkřížené kontaminaci vzorků použitím nové extrakční zkumavky a odběrové tyčinky pro každý vzorek.
- V případě, že si potřísníte oči / ústa / kůži extrakčním roztokem, omyjte postižené místo dostatečným množstvím vody. Je-li to nutné, vyhledejte lékařskou pomoc (extrakční roztok obsahuje azid sodný).

8. Manipulace se vzorky

- Se vzorky nakládejte jako s potenciálně biologicky nebezpečným materiálem. Noste ochranný oděv – laboratorní plášť, jednorázové rukavice a brýle na ochranu očí. Dodržujte stanovená bezpečnostní opatření, týkající se mikrobiologických rizik, ve všech prováděných postupech a řiďte se standardními postupy pro správnou likvidaci vzorků a kontaminovaných kazet.
- Vzorek stolice neprodleně naředěte a testujte. Extrakční roztok vzorku nemůže být uchováván jako suspenze.
- Testování by mělo být provedeno ihned po odebrání vzorku. Při delší době skladování vzorku je nutné jej uchovávat při teplotě - 20 °C. Vzorky by neměly být opakovaně zmrazovány.
- Před testováním vzorky nechte vytemperovat na laboratorní teplotu. Zmrzlé vzorky je nutné kompletně rozmrazit a před testováním dobře rozmíchat.
- V případě nutnosti transportu vzorku se řiďte regulačními pravidly týkajícími se transportu vzorků lidského původu.

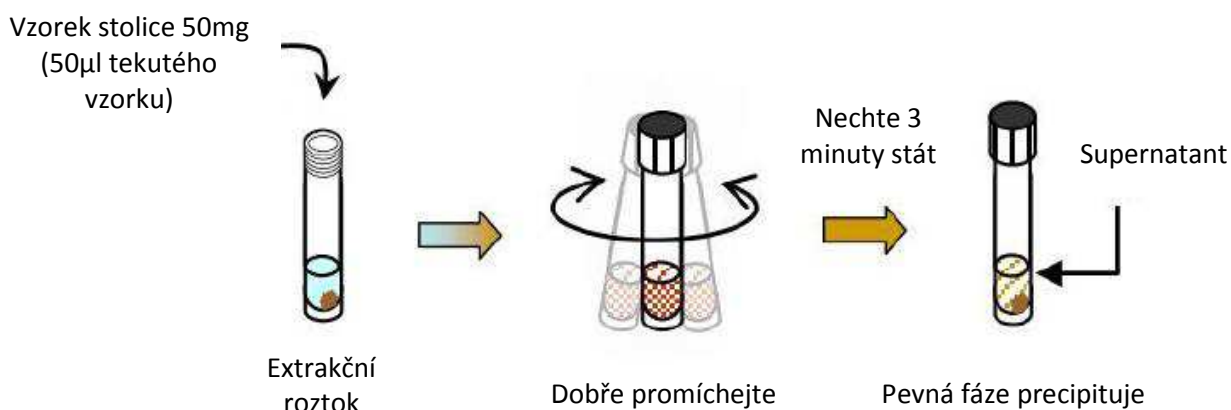
9. Postup testu

Vzorky by měly být alespoň 15 – 30 minut před testováním vytemperovány na laboratorní teplotu.

1. Extrakce vzorku

- Do zkumavky odeberte 0,8 ml extrakčního roztoku.
- Pomocí odběrového tamponu odeberte přibližně 50 mg vzorku stolice (50 µl tekuté stolice) do zkumavky.
- Důkladně promíchejte za použití vortexové třepačky.
- Nechte stát 3 minuty. Jako vzorek použijte supernatant.

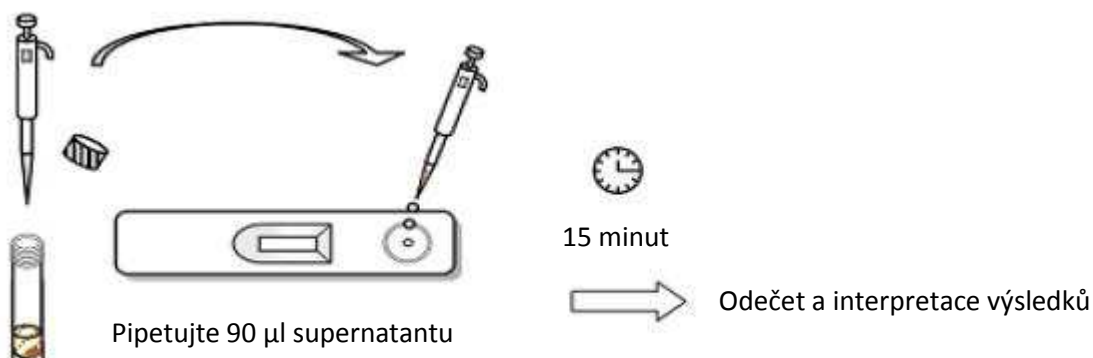
Pozn.: V případě velkého množství vzorku stolice nebo jeho vysoké viskozity ho před provedením testu 2x zředěte pufrem nebo zcentrifugujte po dobu 5 minut na 3000x g.



2. Reakce

- Vyjměte testovací kazetu z jejího obalu a umístěte ji na čistý a rovný povrch.

- Do jamky pro vzorek pipetujte 90 µl supernatantu vzorku. Zabraňte nasátí pevného materiálu.
- Za 15 minut odečtěte výsledek testu. Výsledky testu neodečítejte po době delší než 15 minut.

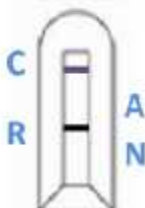


10. Výsledky a interpretace



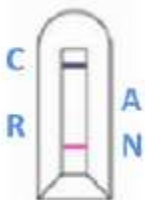
Adenovirus POZITIVNÍ: Přítomnost dvou různých proužků:

Pozitivní kontrolní proužek v kontrolní zóně (C) a pozitivní (i slabě) proužek v zóně Adenoviru (A).



Rotavirus POZITIVNÍ: Přítomnost dvou různých proužků:

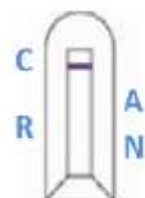
Pozitivní kontrolní proužek v kontrolní zóně (C) a pozitivní (i slabě) proužek v zóně Rotaviru (R).



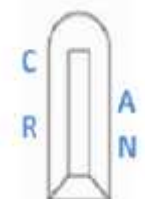
Norovirus POZITIVNÍ: Přítomnost dvou různých proužků:

Pozitivní kontrolní proužek v kontrolní zóně (C) a pozitivní (i slabě) proužek v zóně Noroviru (N).

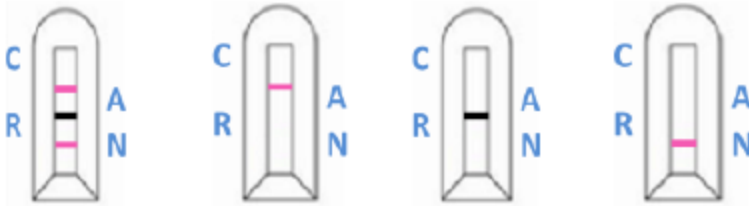
Pozn.: Intenzita proužku v testovací zóně je proměnlivá dle koncentrace antigenu ve vzorku. I když je proužek pouze slabě zbarvený, vyhodnocujte jako pozitivní, pokud je okem viditelný.



NEGATIVNÍ: Objeví se pouze jeden proužek v kontrolní zóně C. Žádný proužek v zónách A, R nebo N.



NEPLATNÝ: Žádný viditelný proužek v zóně C (nezávisle na tom, zda se v zónách A, R a N proužek objevil nebo ne). Test je neplatný a měl by být opakován s novou testovací kazetou.



Pozn.:

- Pokud se v testovacích zónách A, R nebo N objeví extrémně tmavý proužek, zatímco v kontrolní zóně C žádný, zkuste vzorek 5 – 10krát zředit pufrem a opakujte test s novou testovací kazetou.
- Negativní výsledek nemusí nutně vylučovat virovou infekci. Pokud z testu obdržíte negativní výsledek, posuzujte ho s přihlédnutím na klinickou manifestaci pacienta a výsledky dalších testovacích metod.

11. Kontrola kvality

Test obsahuje interní procesní kontrolu (zóna C). Umožňuje kontrolu nanesení dostatečného množství supernatantu a správného provedení testu.

12. Omezení

- Tento test by měl být použit pro detekci antigenů Adenoviru, Rotaviru a Noroviru pouze ze vzorků lidské stolice.
- IMMUNOQUICK® NoRotAdeno pouze indikuje přítomnost antigenů Adenoviru, Rotaviru a Noroviru ve vzorku. Jeho výsledek by neměl být jediným kritériem pro diagnózu infekce.
- Jako u ostatních diagnostických testů, výsledek testu by měl být lékařem posuzován spolu s klinickými projevy pacienta.
- V případě, že byl test negativní, ale přetrvávají klinické symptomy, mělo by být provedeno další testování za pomoci jiných diagnostických metod. Negativní výsledek testu nevyklučuje nutně možnost infekce.

13. Spolehlivost testu

1. Zkřížená reaktivita: Byla zkoumána zkřížená reaktivita s bakteriemi, které se vyskytují ve vzorcích stolice při projevech symptomů akutní gastroenteritidy a s běžnou bakteriální střevní mikroflórou. Absence zkřížené reaktivity byla prokázána u těchto bakteriálních zástupců:

- | | |
|------------------------------|-----------------------------|
| - <i>S. enteritidis</i> | - <i>E. coli</i> O-111 : NM |
| - <i>S. typhimurium</i> | - <i>C. coli</i> |
| - <i>L. monocytogenes</i> | - <i>C. jejuni</i> |
| - <i>S. flexneri</i> | - <i>C. perfringens</i> |
| - <i>S. sonnei</i> | - <i>C. difficile</i> |
| - <i>V. parahaemolyticus</i> | - <i>B. cereus</i> |
| - <i>V. cholerae non-O1</i> | - <i>S. aureus</i> |
| - <i>V. cholerae</i> O-139 | - <i>P. aeruginosa</i> |
| - <i>E. coli</i> O-157 : H7 | - <i>C. freundii</i> |
| - <i>E. coli</i> O-157 | - <i>P. mirabilis</i> |
| - <i>E. coli</i> O-111 | - <i>E. faecium</i> |

2. Detekční limit: Jako pozitivní jsou vyhodnoceny koncentrace vyšší než 6,25 ng/ml pro Norovirus VLP GII/4, pro Rotavirus SA11 vyšší než $9,6 \times 10^4$ TCID₅₀/ml a pro Adenovirus typu 3 vyšší než $7,5 \times 10^4$ TCID₅₀/ml. Tyto koncentrace představují minimální detekční citlivost.

3. Citlivost – specifita: Byla provedena srovnávací studie s metodou RT-PCR a konkurenčním rychlým testem.

Norovirus		RT-PCR		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
IMMUNOQUICK® NoRotAdeno	Pozitivní	50	0	50
	Negativní	2	48	50
	Celkem	52	48	100
		Citlivost 96,2%	Specifita 100%	










Rotavirus		Konkurenční rychlý test		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
IMMUNOQUICK® NoRotAdeno	Pozitivní	49	1	50
	Negativní	0	62	62
	Celkem	49	63	112
		Citlivost 100%	Specifita 98,4%	

Adenovirus		Konkurenční rychlý test		
		Pozitivní	Negativní	Celkem
IMMUNOQUICK® NoRotAdeno	Pozitivní	6	0	6
	Negativní	0	106	106
	Celkem	6	106	112
		Citlivost 100%	Specifita 100%	

14. Literatura

- Shiota, T., Okame, M., Takanashi, S., Khamrin, P., Takagi, M., Satou, K., Masuoka, Y., Yagyu, F., Shimizu, Y., Kohno, H., Mizuguchi, M., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Characterization of a Broadly Reactive Monoclonal Antibody against Norovirus Genogroups I and II: Recognition of a Novel Conformational Epitope. *J. Virol.* 81: 12298- 12306
- Nguyen, T. A., Khamrin, P., Takanashi, S., Le Hoang, P., Pham, L. D., Hoang, K. T., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Evaluation of Immunochromatography Tests for Detection of Rotavirus and Norovirus among Vietnamese Children with Acute Gastroenteritis and the Emergence of a Novel Norovirus GII.4 Variant. *J Trop Pediatr* 53: 264-269
- M Okame, T Shiota, G Hansman, M Takagi, F Yagyu, S Takanashi, TG Phan, Y Shimizu, H Kohno, S Okitsu, H Ushijima (2007). Anti-norovirus polyclonal antibody and its potential for development of an antigen-ELISA. *J Med Virol* (2007) 79: 1180-6.
- Tracy Dewese Parker & al., Identification of genogroup I and genogroup II broadly reactive epitopes on the norovirus capsid, *Journal of Virology*, June 2005: 7402-7409.

15. Symboly

	Použití pouze pro <i>in vitro</i> diagnostiku		Pouze pro jednorázové použití
	Obsah		Datum expirace
	Číslo šarže		Skladovací teplota 2°- 30°C
	Výrobce		Pozorně si přečtěte příbalový leták
REF	Katalogové označení		Výrobek má CE označení