

recomBlot HEV IgG/IgM

Imunoblot využívající elektroforeticky separované rekombinantní antigeny k detekci IgG a IgM protilátek proti viru Hepatitidy E v lidském krevním séru nebo plazmě.

1. Obecné aspekty

RecomBlot HEV IgG/IgM je kvalitativní *in vitro* test určený k detekci a bezpečné identifikaci IgG nebo IgM protilátek proti viru Hepatitidy E (HEV) v lidském krevním séru nebo plazmě. Na rozdíl od ELISA nebo bodových testů umožňuje tento test díky elektroforeticky odděleným antigenům identifikaci a lokalizaci specifických protilátek.

2. Virus Hepatitidy E

Nejdůležitějším patogenem zodpovědným za střevně přenášenou non-A, non-B žloutenku je virus Hepatitidy E (HEV). Virus byl izolován poprvé roku 1983 Mikhailem S. Balayanem, který sám sebe infikoval patogenním materiálem. Po molekulární stránce byl virus charakterizován roku 1988 vědeckým kolektivem Daniela W. Bradleyho. V současnosti je HEV řazen do čeledi *Caliciviridae* jako samostatný rod. Viry řazené do této čeledi jsou morfologicky charakterizovány jako neobalené dvacetistěnné kapsidy o průměru 27-34 nm. Genom se skládá z jednovláknité RNA (pozitivně orientovaná vlákna) o délce cca 7500 bází, která kóduje 3 otevřené čtecí rámce.

Hepatitida E se objevuje především u mladých jedinců, v malé míře pak i u dětí. To může být způsobeno tím, že u dětí probíhá infekce ve většině případů subklinicky a na rozdíl od Hepatitidy A nezanechává celoživotní imunitu. Hepatitida E je závažné onemocnění, které při fulminantním průběhu může končit i fatálně (zhruba 3% případů). Vysoká míra úmrtnosti (20%) je markantní u těhotných žen. Není znám chronický průběh infekce. Inkubační doba po infikaci organismu je 15-60 dní (průměrně 40 dní). Typické klinické příznaky akutní Hepatitidy E jsou jako u ostatních typů žloutenek. Symptomy podobné chřipce, zvracení, teplota, bolest hlavy a kloubů se současnou zvýšenou hladinou ledvinových enzymů. Díky hromadění žluči pak v průběhu onemocnění dochází k zežloutnutí, které může přetrvávat až několik týdnů. K méně často se objevujícím příznakům patří bolest v kloubech, průjem, svědění a kožní vyrážka.

Přenos HEV probíhá prostřednictvím fekálně-orální cesty, nejčastějším zdrojem infekce je kontaminovaná pitná voda. Ve srovnání s virem Hepatitidy A, který je přenášen rovněž fekálně-orální cestou, přenos z člověka na člověka je u HEV velmi vzácný. Čas od času se Hepatitida E rozšíří ve formě velkých epidemií. V některých vysoce endemických oblastech jsou HEV infekce příčinou více než 50% ojedinělých případů akutní hepatitidy u dětí a dospělých.

V západních průmyslových zemích není Hepatitida E endemická. Největší riziko infekce virem hepatitidy E mají lidé cestující do endemických oblastí (střední Amerika, Afrika, Indie a jižní část bývalého Sovětského svazu). Nicméně ve dříve provedených studiích v Německu, Nizozemí i jiných státech byla Hepatitida E diagnostikována i u lidí cestujících do zahraničí. V těchto případech mohlo k přenosu dojít nejspíše z člověka na člověka prostřednictvím kontaminovaných potravin nebo krve. Rovněž byla diskutována i možnost přenosu infekce z prasat nebo jiných zvířat.

3. Diagnostika

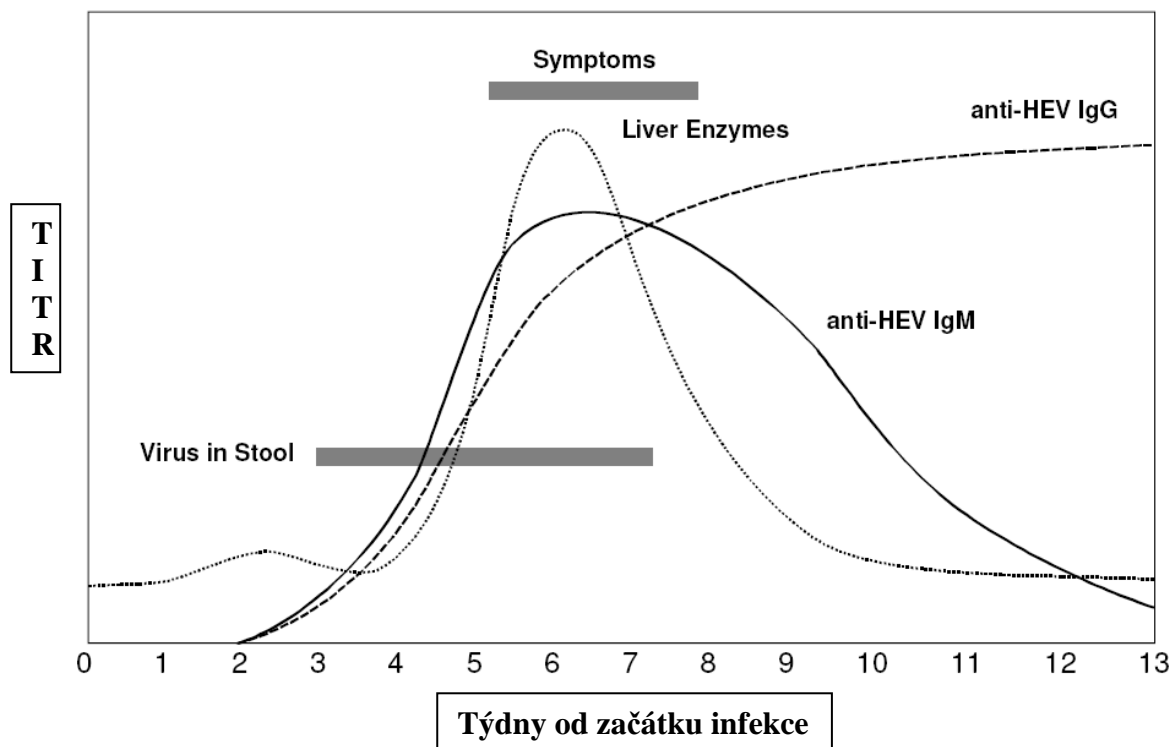
Typické sérologické projevy HEV infekce, znázorněné na obrázku 1, jsou následující:

- a) 4-5 týdnů od počátku infekce zvýšení hladin jaterních enzymů po dobu 20-90 dnů
- b) zhruba po 4 týdnech exkrece viru trvající přibližně 2 týdny
- c) po 3-4 týdnech vzrůstá titr nejprve IgM protilátek, následně protilátek IgG

V časně fázi léčby (po 7-9 týdnech) titr IgM protilátek prudce klesá, zatímco titr IgG protilátek po určitou dobu přetrvává jako ochrana člověka před opětovnou infikací.

Čerstvé infekce lze diagnostikovat detekcí virových částic ve vzorcích stolice, elektronovým mikroskopem nebo detekcí virové RNA v séru PCR technikou, avšak pouze ve specializovaných laboratořích.

Pomocí Western blot diagnostiky lze detekovat jak akutní, tak pozdní infekci.



Obr. 1: Typický vývoj virově specifických markerů v průběhu Hepatitidy E

4. Princip testu

Purifikované rekombinantní antigeny jsou na SDS polyakrylamidovém gelu elektroforeticky separovány podle jejich molekulové váhy. HEV proteiny jsou poté elektroforeticky přeneseny na nitrocelulóзовou membránu (Western blot). Membrána je následně inkubována s proteinovým roztokem blokujícím volná vazebná místa, promyta, nastříhána na jednotlivé proužky a ty poté vloženy do zkumavek.

K detekci HEV-specifických protilátek jsou proužky inkubovány se zředěnými vzorky séra. Během inkubace se protilátky přítomné v testovaných vzorcích váží k antigenům na prouzcích. Nenavázané protilátky jsou odstraněny promytím a proužky následně inkubovány s anti-lidskými IgG a IgM protilátkami konjugovanými s křenovou peroxidázou (HRP). Specificky navázané protilátky jsou detekovány peroxidázou katalyzovanou barevnou reakcí. Došlo-li k vazbě protilátky na antigen, objeví se na odpovídajícím místě testovacího proužku tmavý band.

Pro ověření správné inkubace séra jsou přibližně 2-6 mm pod identifikačním číslem každého proužku nanášeny anti-lidské imunoglobuliny.

5. Obsah soupravy

Souprava obsahuje reagenty v množství potřebném pro 20 vyšetření.

Promývací pufr B (5x koncentrovaný): obsahuje Tris pufr, NaCl, detergent, proteiny, MIT (0.01%) a Oxypyron (0.1%) jako konzervační látky	100 ml
Substrát TMB (tetramethylbenzidin, přímo k použití)	40 ml
Inkubační vanička s 10 žlábků	2 ks
Kontrolní proužek s vyvinutými bandy, specifický pro danou šarži	1 ks
Návod k použití	1 ks
Vyhodnocovací formulář	1 ks
Zkumavka s očíslovanými testovacími proužky (10 ks) potaženými HEV antigeny	2 ks
Cut-off kontrola IgG*: lidského původu, anti-HIV-1/2, anti-HCV a HBsAg negativní, obsahuje MIT (0.1%) a Oxypyron (0.1%) jako konzervační látky	130 µl
IgG konjugát: králičí anti-lidské protilátky konjugované s HRP (100x koncentrovaný), obsahuje NaN ₃ (<0.1%), MIT (<0.1%) a Chloracetamide (<0.1%), zelený vršek	500 µl
IgM konjugát: králičí anti-lidské protilátky konjugované s HRP (100x koncentrovaný), obsahuje NaN ₃ (<0.1%), MIT (<0.1%) a Chloracetamide (<0.1%), fialový vršek	500 µl

*Pro IgM test není cut-off kontrola k dispozici.

6. Další potřebné reagentie a vybavení, které nejsou součástí soupravy

Deionizovaná voda, vakuový extrakční systém s odpadní nádobou a desinfekcí na infekční roztoky, mikropipety, plastové pinzety, třepačka, graduovaný odměrný válec.

7. Informace o testu a reagentiích

7.1. Bezpečnostní opatření:

- ❖ Pro přípravu kontrolního séra byla použita krev dárců, ve které byla ověřena nepřítomnost protilátek proti HIV-1/2, HCV a HBsAg. Přesto nelze možnost infekce absolutně vyloučit, je tedy nutné s kontrolami zacházet se stejnou opatrností jako se vzorky sér pacientů.
- ❖ Pracujte v ochranných rukavicích.
- ❖ Konjugát obsahuje azid sodný, MIT (methyisothiazolone) a Chloracetamide. Vyhněte se kontaktu s kůží a sliznicemi.
- ❖ Všechny reagentie a materiál, který přijde do kontaktu s potenciálně infekčními vzorky, musí být vydesinfikován a autoklávován při 121°C nejméně 1 hodinu.
- ❖ Inkubační vaničku používejte jen jedenkrát.
- ❖ S testovacími proužky zacházejte opatrně pomocí pinzety.

7.2. Zacházení se soupravou

Reagentie skladujte při teplotě 2–8°C, **nezmrazujte**. Všechny komponenty soupravy nechte před použitím nejméně 30 minut temperovat při laboratorní teplotě (18-25°C). Celá procedura je prováděna při laboratorní teplotě.

Identické reagentie (dle tištěných symbolů) mohou být použity u různých imunoblotů a *recomblotů* odpovídající šarže. Dodržujte prosím dobu expirace jednotlivých komponent soupravy.

Kontrolní séra lze použít pouze u čísla šarže uvedeného na obalu soupravy; nelze je používat u souprav jiné šarže.

Před samotnou analýzou testovaná séra a konjugát dobře protřepejte.

Zkumavky obsahující testovací proužky otvírejte teprve těsně před použitím, aby v nich nedocházelo ke kondenzaci vlhkosti. Nepoužité proužky nechejte ve zkumavce a dále skladujte při 2–8°C (zkumavku uzavírejte velmi pevně, proužky nesmí zvlhnout!).

Proužky jsou vzestupně očíslovány a označeny zkratkou daného testu.

Cut-off kontrola musí být provedena paralelně s testovanými vzorky, bez ohledu na to, kolik vzorků sér je testováno. Pro IgM test není cut-off kontrola k dispozici, k vyhodnocení IgM testu použijte prosím IgG cut-off kontrolní proužek. Cut-off kontrola slouží k ověření podmínek testu a správné interpretaci výsledků.

Kvalitu soupravy lze zaručit pouze během doby expirace uvedené na obalu soupravy.

Chraňte veškeré reagentie před přímým slunečním světlem.

Test musí být proveden pouze zaškolenými a kvalifikovanými pracovníky.

Test je vhodný i pro zpracování na automatu. Bližší informace žádejte u svého dodavatele.

7.3. Příprava roztoků

7.3.1. Příprava pracovního ředění promývacího pufru B

Pufř je používán nejen k promývání, ale i k ředění vzorků sér a konjugátu. Podle počtu testovaných proužků připravte odpovídající objem promývacího pufru B. Pracovní ředění promývacího pufru B připravujte těsně před použitím.

Promývací pufř B obsahuje rozpustné proteinové částice. Pufř není nutné protřepávat. 1 díl promývacího pufru B se ředí 4 díly deionizované vody (ředění 1+4). Potřebná množství promývacího pufru B jsou uvedena v tabulce 6. Testujete-li jiný počet proužků, než je uvedeno v tabulce, je nutné potřebný objem promývacího pufru dopočítat.

Pracovní ředění promývacího pufru B, které nebylo spotřebováno, je nutné zlikvidovat.

Tab. 6: Příprava promývacího pufru B

Použitý proužky	Koncentrovaný promývací pufř B	Deionizovaná voda	Pracovní ředění promývacího pufru B
1	5 ml	20 ml	25 ml
2	10 ml	40 ml	50 ml
3	15 ml	60 ml	75 ml
5	25 ml	100 ml	125 ml
10	50 ml	200 ml	250 ml
15	75 ml	300 ml	375 ml
20	100 ml	400 ml	500 ml

7.3.2. Příprava roztoku konjugátu

Roztok IgG, resp. IgM konjugátu musí být připraven těsně před použitím. Pracovní ředění roztoku konjugátu není možné dále skladovat.

1 díl koncentrovaného IgG, resp. IgM konjugátu se ředí se 100 díly pracovního ředění promývacího pufru B (1+100).

Potřebná množství jednotlivých roztoků udává tabulka 7. Testujete-li jiný počet proužků, než je uvedeno v tabulce, je nutné potřebné objemy daných roztoků dopočítat.

Tab. 7: Objemy pro ředění anti-lidského IgG a IgM konjugátu

Použité proužky *	Koncentrovaný IgG nebo IgM konjugát	Pracovní ředění promývacího pufru B
1	20 µl	2 ml
2	40 µl	4 ml
3	60 µl	6 ml
5	100 µl	10 ml
10	200 µl	20 ml
15	300 µl	30 ml
20	400 µl	40 ml

* Objemy jsou počítány bez „mrtvého objemu“. Připravujte proto roztok konjugátu pro 1-3 proužky navíc v závislosti na způsobu zpracovávání testu (ručně nebo na automatu).

7.3.3. Roztok substrátu

Roztok substrátu je připraven k přímému použití. Před použitím jej vytemperujte na laboratorní teplotu (18-25°C).

Je nutné vyvarovat se kontaminaci roztoku substrátu, např. použitím kontaminované špičky, neboť by se tak ovlivnila citlivost testu.

7.4. Skladování a stabilita

Reagencie skladujte při 2-8°C.

Pracovní ředění promývacího pufru B nelze dále skladovat.

Roztok konjugátu musí být připraven vždy čerstvý.

8. Vzorky

Jako vzorek lze použít krevní sérum nebo plazmu, které byly co nejdříve po odebrání separovány od koagula. Tepelně inaktivované vzorky způsobují zvýšenou reaktivitu pozadí testu. Za všech okolností předcházejte mikrobiální kontaminaci vzorků. Nerozpustné částice je nutné ze vzorků odstranit ještě před jejich inkubací.

Lipemická, hemolytická nebo zakalená séra způsobují ztmavnutí pozadí testu *recomBlot HEV*. Mohou rovněž poskytovat falešné výsledky, proto nesmí být používány.

Upozornění!

Nemůžete-li test provést okamžitě, mohou být vzorky skladovány při teplotě 2-8°C až 2 týdny. Dlouhodoběji je lze skladovat při minimální teplotě -20°C. Opakované zmrazování a rozmrazování vzorků není doporučováno, neboť se tím ovlivňuje kvalita výsledků.

9. Pracovní postup

9.1. Obecné informace

Reprodukovatelnost výsledků závisí především na preciznosti promývání proužků (postup promytí uveden v bodech 9.3. a 9.5.).

9.2. Inkubace vzorku

1. 1 inkubační žlábek je určen pro 1 testované sérum. Do každého žlábků napipetujte **2 ml** pracovního ředění promývacího pufru B. Plastovou pinzetou opatrně ponořte testovací proužek do příslušného žlábků naplněného promývacím pufrem. Číslo proužku musí směřovat vzhůru.

Upozornění! Testovací proužek musí být do promývacího pufru zcela ponořen.

Do vyhodnocovací tabulky zaznamenejte číslo zkumavky s použitými testovacími proužky a číslo každého proužku.

2. Přidání vzorků

IgG test: Do příslušných žlábků napipetujte **33 µl** neředěného vzorku (lidské sérum nebo plazma), respektive cut-off kontroly (**ředění 1 + 60**).

IgM test: Do příslušných žlábků napipetujte **33 µl** neředěného vzorku - lidské sérum nebo plazma (**ředění 1 + 60**). Pro IgM test není cut-off kontrola k dispozici, k vyhodnocení prosím použijte IgG cut-off kontrolní proužek.

Dbejte na to, abyste vzorek přidávali u konce proužku ponořeného v promývacím pufru B, a co možná nejdříve opatrně promíchali.

Do vyhodnocovací tabulky zaznamenejte číslo vzorku a třídu imunoglobulinů (IgG, IgM).

Inkubační misku přikryjte víčkem a za jemného třepání při laboratorní teplotě **2 hodiny** inkubujte.

Upozornění!

Dbejte na to, aby se roztoky nedostaly do jiných žlábků. Víčko otevírejte a zavírejte opatrně, aby jednotlivé roztoky nevystříkly ven ze žlábků (riziko křížové kontaminace).

Pokud během inkubace dojde ke kondenzaci vlhkosti, utřete víčko do sucha.

9.3. Promytí

- Po uplynutí inkubační doby opatrně odstraňte plastové víčko.
- Zředěné sérum ze žlábků opatrně odsajte.

Upozornění! Odsávejte roztoky ze žlábků vždy čistou špičkou nebo špičky vždy řádně promyjte deionizovanou vodou. Používáte-li promývačku, řiďte se pokyny výrobce.

- Následně do každého žlábků přidejte **2 ml** pracovního ředění promývacího pufru B a za jemného třepání **5 minut** inkubujte. Poté pufr odsajte.
- Promytí dle bodu 3 opakujte ještě **čtyřikrát**.

9.4. Inkubace s konjugátem

Po promytí proužků do každého žlábků přidejte **2 ml** připraveného **roztoku konjugátu** (viz tabulka 7). Za jemného třepání při laboratorní teplotě **1 hodinu** inkubujte. Během inkubace musí být žlábků zakryty plastovým víčkem.

9.5. Promytí

Roztok konjugátu ze žlábků odsajte a proužky opět promyjte (viz bod 9.3).

9.6. Reakce substrátu

Do každého žlábků přidejte **1.5 ml roztoku substrátu** a za jemného třepání inkubujte při laboratorní teplotě **5-15 minut**.

Kontrolujte průběh barevné reakce. Proužky v roztoku substrátu inkubujte, dokud se na proužku inkubovaném s cut-off kontrolou neobjeví nejvrchnější band tripletu O2-C. U vysoce pozitivních sér může být barevná reakce příliš intenzivní. U těchto proužků proto doporučujeme zastavit barevnou reakci dříve.

9.7. Zastavení reakce

- Po odsátí roztoku substrátu proužky **tříkrát promyjte deionizovanou vodou**.
- Plastovou pinzetou proužky opatrně vyjměte, umístěte je mezi dvě vrstvy absorbčního papíru a nechte 2 hodiny sušit. Suché proužky vlepíte do vyhodnocovací tabulky a odečtené výsledky zapišete do protokolu.
- Proužky by měly být uchovávány na temném místě.

10. Souhrn pracovního postupu

1.	Vytemperujte všechny reagenty na laboratorní teplotu
2.	Vložte proužky do 2 ml pracovního ředění promývacího pufru B a zkontrolujte, zda jsou v pufru zcela ponořeny
3.	Přidejte 33 µl vzorku, respektive kontrolního séra
4.	Za jemného třepání při laboratorní teplotě 2 hodiny inkubujte
5.	Na třepačce čtyřikrát po pěti minutách promývejte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru B
6.	Přidejte 2 ml odpovídajícího roztoku konjugátu
7.	Za jemného třepání při laboratorní teplotě 1 hodinu inkubujte
8.	Na třepačce čtyřikrát po pěti minutách promývejte 2 ml pracovního ředění promývacího pufru B
9.	Přidejte 1.5 ml roztoku substrátu a za jemného třepání při laboratorní teplotě inkubujte 5–15 minut (bandy viz bod 9.6.)
10.	Proužky promyjte nejméně tříkrát deionizovanou vodou
11.	Proužky nechte mezi 2 vrstvami absorbčního papíru 2 hodiny sušit a poté odečtěte výsledky

11. Vyhodnocení

11.1. Vyhodnocení intenzity bandů

1. Cut-off kontrola musí být provedena paralelně s testovanými vzorky, bez ohledu na to, kolik vzorků sér je testováno. Reaktivita cut-off kontroly slouží k odlišení reaktivity specifických protilátek a reaktivity pozadí (platí pro IgG test).
2. Do přiložené vyhodnocovací tabulky zapište datum, šarži, číslo zkumavky a detekovanou podtřídou protilátek.
3. Dále zapište identifikační čísla vzorků.
4. Přilepte jednotlivé proužky na odpovídající pole vyhodnocovací tabulky tak, aby band kontroly reakce byl na vyznačené linii. Proužek poté transparentní lepicí páskou nalevo od této linie zafixujte. Pokud byste proužek přilepili lepidlem nebo lepicí páskou po celé délce, zbarvení jednotlivých bandů by vymizelo.
5. Kontrolní proužek s označenými názvy jednotlivých bandů na fixované proužky tak, aby bandy kontroly reakce byly v jedné linii. Kontrolní proužek je specifický pro danou šarži a pochází ze stejného nitrocelulóзовého pásu jako proužky testovací. Jsou na něm vyznačeny molekulové váhy a názvy jednotlivých antigenních bandů.
6. Intenzita bandů je určována v porovnání s IgG cut-off kontrolou pro každou třídu imunoglobulinů zvlášť (viz 11.2, respektive tab. 8). Zjištěné bodové hodnoty zapište do protokolu.

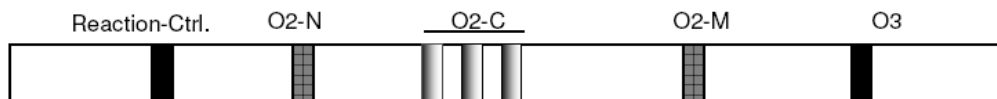
11.2. Kontrola výsledků

Cut-off kontrola musí být provedena paralelně s testovanými vzorky, bez ohledu na to, stanovujete-li IgG nebo IgM protilátky. Slouží k ověření podmínek testu (citlivosti) a ke confirmaci reaktivity protilátek s jednotlivými antigenními bandy. Poloha bandů musí být u testovacích proužků shodná s proužkem kontrolním (specifický pro danou šarži).

Kontrolní band (kontrola reakce) nejbližší pod číslem proužku slouží k ověření správného provedení testu. Musí být zřetelně zbarvený.

Proužky inkubované s cut-off kontrolou musí vykazovat následující sestavu bandů:

- **IgG cut-off kontrola**



Musí být viditelné následující bandy: kontrola reakce, O2-C a O3. Může být viditelná slabá reaktivita protilátek proti O2-N a O2-M.

K vyhodnocení intenzity bandů slouží jako referenční band nejvrchnější band z tripletu O2-C u proužku inkubovaného s IgG cut-off kontrolou.

Tab. 8: Intenzita bandů

Bandy	Intenzita	Body
žádná reaktivita	-	0
velmi slabá intenzita	±	1
slabá intenzita (odpovídá intenzitě nejvrchnějšího bandu z tripletu O2-C u IgG cut-off kontroly)	+	2
dobře viditelný a silně intenzivní	++	3

11.3. Výsledky a interpretace testu

U jednotlivých bandů vyhodnoťte intenzitu reakce podle tabulky 8 a odpovídající počet bodů napište do protokolu. U každého testovacího proužku sečtete počet bodů a sumu rovněž zaznamenejte do protokolu. Dle tabulek 9 (IgG test) a 10 (IgM test) lze pak jednoduše určit, zda je výsledek pozitivní, hraniční nebo negativní.

Tab. 9: Vyhodnocení IgG testu

Součet bodů	Vyhodnocení
0-2	negativní
3	hraniční
4-12	pozitivní

Tab.10: Vyhodnocení IgM testu

Součet bodů	Vyhodnocení
0-4	negativní
5	hraniční
6-12	pozitivní

11.4. Poznámka k interpretaci výsledků

Negativní výsledek testu nemůže vyloučit HEV infekci. Pokud lze podle klinických příznaků očekávat HEV infekci a výsledek testu byl negativní, test musí být po 4 týdnech zopakován znovu.

Pozitivní výsledek IgG a/nebo IgM testu *recomBlot* HEV neznámá za všech okolností aktivně probíhající patologický proces.

Akutní Hepatitida E je charakteristická silnou reaktivitou IgG protilátek za současné positivity IgM testu. Vykazuje-li se IgM test reaktivitu protilátek pouze proti izolovaným bandům, je nutné test nejdříve po týdnu zopakovat.

Výsledky sérologických testů by vždy měly sloužit pouze jako doplněk klinického obrazu daného pacienta.

Tmavě zbarvené testovací proužky:

Séra některých pacientů (např. s alergií na mléčné proteiny) mohou vytvářet tmavé zbarvení celého nitrocelulóзовého pásu. Tento efekt je vyvolán mnoha různými faktory v séru každého pacienta. Vyhodnocení proužků je pak obvykle možné pouze s určitou restrikcí. Např. „inverzní bandy“ (bílé bandy na tmavém pozadí) jsou hodnoceny jako negativní. Dané sérum však musí být v každém případě testováno znovu jinými sérologickými metodami.

12. Klinické výsledky

HEV IgG/IgM *recomBlotem* bylo testováno 40 pacientů z Madrasu s akutně probíhající HEV infekcí a dále 197 dárců krve z Baviarie a 200 z Madrasu. Výsledky shrnují tabulky 11 a 12.

Tab. 11: Akutní HEV infekce

		pozitivní	hraniční	negativní
Madras (n = 40)	IgG	97.5%	2.5%	0%
	IgM	85.7%	0%	14.3%






Tab. 12: Dárci krve

		pozitivní	hraniční	negativní
Bavaria (n = 197)	IgG	5.1%	9.6%	85.3%
	IgM	0%	0.5%	99.5%
Madras (n = 200)	IgG	44%	17%	39%
	IgM	1.5%	4%	94.5%

13. Literatura

- (1) Reyes GR, Purdy MA, Kim JP, Luk K-C, Young L, Fry, KE, Bradley DW **Isolation of a cDNA from the virus responsible for enteritically transmitted non-A, non-B hepatitis.** *Science* 1990, 247:1335-9.
- (2) Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS **Evidence for a virus in a non-A, non-B hepatitis transmitted via the feco-oral route.** *Intervirology* 1983, 20:23-31.
- (3) Bradley DW, Andjaparidze A, Cook EH, McCaustland K, Balayan M, Stetler H, et al. **Aetiological agent of enteritically transmitted non-A, non-B hepatitis.** *J. Gen. Virol.* 1988, 69:731-8.
- (4) Modrow S und Falke D **Molekulare Virologie.** *Spektrum, Akad. Verl.* 1997, 185-9
- (5) Frösner GG, v. Brunn A, Nitschko H, Langer BCA, Seebach J **Hepatitis-E-Diagnostik:Nachweisempfindlichkeit von Anti-HEV und Anti-HEV IgM, Western-Blot und Peptidassay als Bestätigungstest, Diagnosestellung durch PCR, Sequenzvariation des HEV in verschiedenen Regionen der Welt.** *Moderne Hepatitisdiagnostik/Hrsg.: G. Frösner, 1. Auflage, Kilian Verlag* 1996, 123-30.
- (6) Mast EE, Krawczynski K **Hepatitis E: an overview.** *Annu. Rev. Med.* 1996, 47:257-66.
- (7) Langer BC, Frösner GG **Relative importance of the enterically transmitted human hepatitis viruses type A and E as a cause of foreign travel associated hepatitis.** *Arch. Virol. Suppl.* 1996, 11:171-9.
- (8) Zaaijer HL, Mauser-Bunschoten EP, ten Veen JH, Kapprell HP, Kok M, van den Berg HM, Lelie PN **Hepatitis E virus antibodies among patients with hemophilia, blood donors, and hepatitis patients.** *J Med Virol* 1995 Jul;46(3):244-6.
- (9) Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, Lehman JR, Webb DM, Tsareva TS, Haynes JS, Thacker BJ, Emerson SU **A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus.** *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94(18):9860-5.
- (10) Schlauder GG, Dawson GJ, Erker JC, Kwo PY, Knigge MF, Smalley DL, Rosenblatt JE, Desai SM, Mushahwar IK **The sequence and phylogenetic analysis of a novel hepatitis E virus isolated from a patient with acute hepatitis reported in the United States.** *J Gen Virol* 1998, 79 (Pt 3):447-56.
- (11) Smith AW, Skilling DE, Cherry N, Mead JH, Matson DO **Calicivirus Emergence from Ocean Reservoirs: Zoonotic and Interspecies Movements.** *Emerging Infectious Diseases* 1998, 4(1):13-20.

14. Vysvětlivky symbolů

	Počet testů v soupravě
EVAlFORM	Vyhodnocovací formulář
INSTRU	Návod k použití
	Podívejte se do pracovního postupu
CONT	Obsah soupravy
IVD	<i>In vitro</i> diagnostická souprava
LOT	Číslo šarže
	Nezmrazujte
REF	Katalogové číslo
	Použitelné do uvedené doby expirace
	Teplotní limitace. Skladujte při x-y°C

15. Kontakty

Výrobce:

ALL.DIAG

10, rue Ettore Bugatti – BP6

67038 Strasbourg Cedex 2

tel: 03 88 78 80 88, fax: 03 88 78 76 78

www.alldiag.com; info@alldiag.com

Dodavatel:

LABOSERV s.r.o.

Hudcova 78b, 612 00 Brno

Tel: +420 541 243 113, Fax: +420 541 243 114

email: laboserv@laboserv.cz

http://www.laboserv.cz