

Téma : Imunochromatografické stanovení přítomnosti antigenu RSV viru

Teorie: Binax NOW[®] RSV TEST je rychlá imunochromatografická metoda pro kvalitativní stanovení antigenu RSV (Respiračního Syncyciálního Viru) z nasálního výplachu nebo výtěru z nosohltanu u symptomatických pacientů. RSV způsobuje často se vyskytující onemocnění horních i dolních cest dýchacích, nejčastěji bronchitid a pneumonií novorozenců a dětí. Infekce RSV nejčastěji propuká v podzimních, zimních a jarních měsících. Přestože může RSV způsobit onemocnění u větších dětí a dospělých, jejich průběh je mírnější než u malých dětí.

Rychlé odhalení a diagnóza RSV přispívá k lepšímu výběru antimikrobiální terapie. Rychlá identifikace může vést také ke zkrácení doby hospitalizace, ke snížení spotřeby antimikrobiálních chemoterapeutik a také ke snížení ceny nemocniční péče.

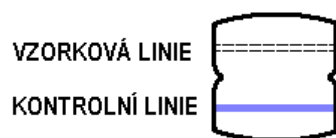
Pozn: Tento test je v klinické praxi určen pro *in vitro* diagnostiku Respiračního syncyciálního viru u novorozenců a dětí pod 5 let. Negativní výsledek by měl být potvrzen kultivací na buněčné kultuře.

Cíl: Zjištění přítomnosti RSV viru

Metoda: imunochromatografická metoda v podobě kazetového testu (precipitace)

Materiál: Binax NOW[®] RSV kazetový TEST, vzorek z nasálního výplachu či výtěru z nosohltanu.

Principy stanovení



Anti-RSV protilátka je absorbována na nitrocelulosovou membránu ve vzorkové linii. Kontrolní protilátka je absorbována na druhou - kontrolní linii, která má u nepoužitého testu vždy modrou barvu (viz obr.).

Obě protilátky jsou konjugovány a vysušeny na inertním vláknitém nosiči. Ten spolu s membránou vytváří testovací proužek. Testovací proužek je umístěn na pravé straně testovací kazety.

Postup:

Vzorky výtěru z nosohltanu vyžadují před testováním přípravu. Ta se provádí namočením tamponu do elučního roztoku. Nasální výplachy tento krok nevyžadují a pracuje se s nimi přímo.

Výtěr z nosohltanu:

Vytřete nos tamponem a tampon ponořte do vialky s elučním roztokem. Přitiskněte tampon k její stěně a otřete ho o ni otáčením. Pokračujte krokem č. 2.

Kontrolní tampony:

1. Ve víčku ampule je drobná jehla. Víčko nešroubujte, ale stlačte proti ampuli. Jehla slyšitelně probodne její horní část. Odstraňte víčko a celý obsah vylijte do vialky.
2. Namočte tampon do roztoku ve vialce a několikrát s ním otočte.
3. Při tiskněte tampon ke stěně vialky a otřete ho o ni otáčením. Vytlačíte tím vzorek do roztoku.
4. Tampon vyhoďte.
5. Co nejdříve pokračujte krokem č. 2.

1. Ochrannou folii odstraňte těsně před testováním. Kazetu položte na stůl vodorovně.
2. Stlačte silně horní část pipetky, ponořte ji do vialky a uvolněním roztok nasajte.

Ujistěte se, že v dolní části pipetky není žádná vzduchová bublina.

3. Celý obsah pipetky pomalu naneste na horní část testovacího proužku, tak aby se celý obsah vsáknul.
4. Odstraňte adhezivní pásku na pravé straně testovací kazety a zavřete kazetu.

Výsledek přečtěte po 15 min. Výsledky odečtené dříve mohou být nepřesné!

Nasální výplach:

Nasální výplach nepotřebuje přípravný krok, pokračujte krokem č.2

Při provedení testu je vzorek aplikován na horní část testovacího proužku a systém je poté uzavřen. RSV-antigen je vázán konjugovanou anti-RSV protilátkou na mebráně a vytváří růžový proužek ve vzorkové linii. Kontrolní imobilizovaná protilátka je zachycena konjugátem a vytváří růžový proužek v kontrolní linii. Pokud kontrolní linie zůstala modrá, nelze test hodnotit.

Test je hodnocen na základě přítomnosti nebo nepřítomnosti detekčních růžovo-červených linií. Pozitivní výsledek je čitelný do 15 minut a zahrnuje detekci vzorkové i kontrolní linie. Negativní výsledek je čitelný za 15 minut, je prezentován pouze kontrolní linií a indikuje, že RSV-antigen není ve vzorku pacienta přítomen. Selhání kontrolní linie nebo její modrá barva ukazuje na chybný nebo špatně provedený test.

Interpretace výsledků:

Negativní výsledek - modrá kontrolní linie se změní na růžovo-červenou v dolní části

Pozitivní výsledek - modrá kontrolní linie se změní na růžovo-červenou a nad ní se objeví

druhá růžovo-červená linie vzorku.

Chybný výsledek - pokud kontrolní linie zůstane modrá nebo není-li přítomna žádná kontrolní linie, je test chybný a měl by být opakován na nové destičce.

Výsledky:



kontrola

1. testovaný vzorek

2. testovaný vzorek

Závěr:

Jak můžeme pozorovat, na obou testovaných vzorcích je výsledek negativní, jelikož je přítomna pouze kontrolní linie a RSV antigen není přítomen. U kontroly je patrný pozitivní výsledek, je přítomna kontrolní i vzorková linie, která je však špatně patrná kvůli rozmazané fotografii.