

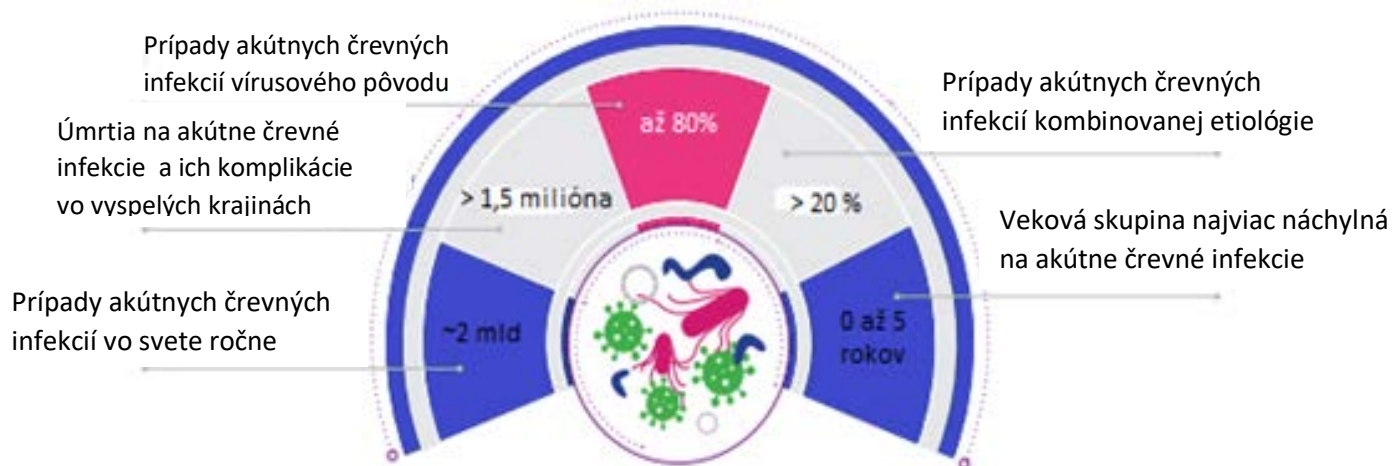
Laboratórna diagnostika akútnych črevných infekcií

metódou Real-Time PCR



Akútne črevné infekcie

Akútne črevné infekcie sú skupinou akútnych infekčných ochorení človeka s bežnou cestou prenosu a charakteristickým klinickým obrazom. Pôvodcami črevných infekcií sú mnohé vírusy, baktérie a ich toxíny, ale aj huby a prvoky. Sú to jedny z najbežnejších ochorení na svete a sú na druhom mieste v štruktúre infekčných chorôb po akútnych respiračných vírusových infekciách.



Klinické prejavy



kŕče a bolesť
v bruchu



hnačka



zvracanie



teplota



bolesť hlavy
a svalov



príznaky
infekcie
dýchacích
ciest

Pri absencii účinnej včasnej liečby sa môžu vyvinúť komplikácie: dehydratácia, akútne zlyhanie obličiek, infekčno-toxický šok, neurotoxikóza, poruchy krvného obehu, hypovolemický šok.

Ťažká dehydratácia môže viesť k smrti.



- **Spôsob prenosu infekcií:** fekálno-orálne, prostredníctvom potravín, vody alebo kontaktných-domácich cestami; pri vírusovej gastroenteritíde je tiež možný prenos vzduchom
- **Klinické znaky:** akútne nástup ochorenia, asymptomatické prenášanie, dlhodobé uvoľňovanie patogénu počas obdobia rekonvalescencie
- **Epidemický proces:** sporadický, skupinové a nozokomiálne ohniská; rýchle šírenie v ohnisku
- **Stabilita vo vonkajšom prostredí:** vysoká stabilita vo vonkajšom prostredí; niektoré patogény sú odolné voči dezinfekčným prostriedkom

	Riziková skupina	Inkubačná doba	Sezónnosť ochorenia
<i>Adenovirus</i> sérotypy 40 a 41	Novorodenci, deti	8-10 dní	Celý rok
<i>Norovirus</i>	Deti a dospelí	12-48 hodín	Jeseň-zima
<i>Rotavirus</i>	Deti vo veku od 3 do 15 mesiacov	1-3 dni	Zimné obdobie
<i>Astrovirus</i>	Deti do 2 rokov	3-4 dni	Chladné obdobie
<i>Campylobacter</i>	Deti od 1 do 5 rokov	2-5 dní	Letné obdobie
<i>Salmonella spp.</i>	Deti a dospelí	12-24 hodín	Leto-jeseň
<i>Shigella spp. a EIEC</i>	Deti od 1 do 3 rokov	1-7 dní	Letné a jesenné obdobie

Laboratórna diagnostika akútnych črevných infekcií metódou real-time PCR

Na včasnú implementáciu preventívnych opatrení a vymenovanie účinnej terapie je potrebné včas zistiť etiológiu ochorenia. Diferenciálna diagnostika akútnych črevných infekcií umožňuje identifikovať asymptomatické a chronické formy priebehu ochorenia a kontrolovať liečbu.



Detekcia DNA a RNA pôvodcov akútnych črevných infekcií pomocou PCR v reálnom čase

- Molekulárno-genetické metódy sa považujú za povinný doplnok pri diagnostike akútnych črevných infekcií.
- Testovanie sa vykonáva do 24 hodín od okamihu, kedy biologický materiál dorazí do laboratória. V prípade veľkého počtu vzoriek sa tvorí reprezentatívna vzorka.
- Biologický materiál je potrebné získať počas prvých 72 hodín od začiatku ochorenia a najneskôr do 24 hodín od hospitalizácie.
- Pri PCR testovaní je dôležité vziať do úvahy také vlastnosti, ako je vysoká vírusová záťaž (až 10 viriónov/g (ml) stolice) a veľký počet inhibítorov PCR/RT-PCR v skúmanom biologickom materiáli. Na získanie správnych výsledkov počas analýzy je potrebné postupovať podľa odporúčaní výrobcu diagnostickej súpravy.

Technológia RealBest®: riešenie pre PCR diagnostiku akútnych črevných infekcií

Príprava fekálnej suspenzie

Materiál odoberte z čistého povrchu na jedno použitie alebo zo sterilnej plastovej nádoby. Pracovnú časť tampónu úplne ponorte do vzorky (ak zachytávate prebytok vzorky, nechajte prebytok na stene nádoby).



Pracovná časť tampónu so vzorkou vložte do skúmavky s Transportným roztokom (M), kat. č. C-8867 a opatrne resuspendujte vzorku v roztoku, sondu odstráňte.



Vzorka je pripravená na prepravu, uskladnenie a extrakciu NK

Teplota a doba skladovania:

- (18–26) °C nie viac ako 6 hodín;
- (2–8) °C nie viac ako 5 dní;
- mínus (18–40) °C nie viac ako 1 mesiac;
- pod mínus 40 – dlhodobo

Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie vzoriek nie je povolené



Isolácia DNA a RNA zo 100 µl fekálnej suspenzie/rektálnych tampónov/vodných koncentrátov

RealBest Extraction 100 pre manuálnu prípravu vzoriek

RealBest UniMag pre automatické stanice na prípravu vzoriek **RbMag/KingFisherFlex/RealFly**

Pred izoláciou ponechajte vzorku pri izbovej teplote počas 5 minút, kým sa veľká suspenzia a častice neusadia; ak je to potrebné, centrifugujte pri 3000 ot./min. počas 1 minúty.



Identifikácia DNA a RNA hlavných pôvodcov akútnych črevných infekcií

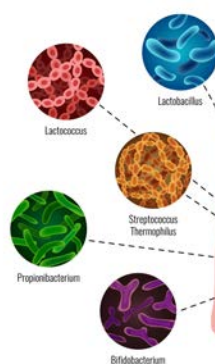
- *Norovirus GI/GII*
- *Rotavirus A*
- *Astrovirus*
- *Adenovirus F*
- *Salmonella spp.*
- *Campylobacter* (termofilný)
- *Shigella spp.*
- EIEC (enteroinvazívna *E.coli*)

Príprava rektálnych sterov

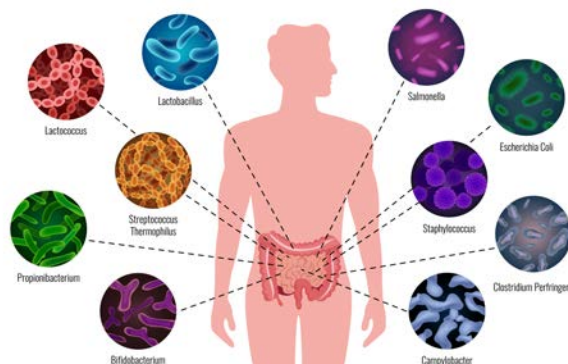
Materiál sa odoberá sterilným tampónom. Pracovná časť tampónu zavedte do konečníka do hĺbky asi 1 cm a urobte niekoľko krúživých pohybov.



GOOD BACTERIA



BAD BACTERIA



Reagenčné súpravy na diagnostiku akútnych črevných infekcií metódou real-time PCR

Kat. č.	Názov súpravy	Počet testov
Extrakčné súpravy na izoláciu nukleových kyselín		
8896	RealBest extrakcia 100	48 (6x8)
8883	RealBest UniMag	96 (4x24)
Validácia odberu biologického materiálu		
8888 €	RealBest Validácia vzorky	96
Súpravy na detekciu akútnych črevných infekcií		
1696	RealBest-OKI RNA Norovirus GI/GII	96
1697	RealBest-OKI RNA Rotavirus A/Astrovirus	96
1698	RealBest-OKI DNA Salmonella spp./Adenovirus F	96
1699	RealBest-OKI DNA Campylobacter (termofilný)/Shigella spp. a EIEC	96



Vzorky

- Fekálna suspenzia
- Rektálne stery
- Vodné koncentráty



- Hotová reakčná zmes na PCR/RT-PCR
- 96 testov
- Komplexná Pozitívna kontrolná vzorka
- Univerzálny protokol amplifikácie



Plná automatizácia analýzy PCR na stanici RbMag

Naplnenie skúmaviek biomateriálom (Transportný roztok M), extrakcia nukleových kyselín a vloženie eluátu do hotovej reakčnej zmesi



Skladovanie pri teplote

- (2-8) °C počas 18 mesiacov
- Preprava pri 26 °C max. 10 dní



Kompatibilné prístroje

CFX96 (BioRad Laboratories Inc., US, DTprime (DNA-Technology, Rusko), FLUORITE (Xi'an TianLong, Science and Technology Co., Ltd., Čína) a analógy

Diagnostické centrum DNK, s.r.o.

Brestová 14, 821 02 Bratislava

+421 911 299 324, +421 911 211 404

dnk@pharma.sk, diagnostika@pharma.sk

www.pcr.sk