


# ProSpecT Adenovirus Mikroplateanalyse

**REF** R240096 .....  96

**NO**

## 1. BRUKSOMRÅDE

ProSpecT™ Adenovirus Mikroplateanalyse er en kvalitativ enzym-immunoanalyse for påvisning av adenovirus i humane feces eller monolag i infiserte cellekulturer.

## 2. SAMMENDRAG

Adenovirus er ikke-avgrensede DNA-virus med ikosaedral symmetri. Adenoviridae-familien består av to grupper: Adenovirus hos pattedyr (mastadenovirus) og adenovirus hos fugler (aviadenovirus)<sup>1</sup>. Hittil har minst 51 adenovirus-serotyper blitt oppdaget. De er delt inn i seks undergrupper (A-F), og har blitt identifisert og karakterisert ved hemagglutinerings, nøytraliseringstester, DNA-hybridiseringstester og restriksjon-endonukleaseanalyse av adenoviral DNA<sup>1,2,3,4,31</sup>.

Humane adenovirus er knyttet til en rekke kliniske sykdommer hos immunokompetente og immunokompromitterte personer, inkludert infeksjoner i respirasjonssystemet, konjunktiva og det gastrointestinale systemet<sup>3,5</sup>. Infeksjoner er vanlige hos barn og kan opptre sporadisk eller som utbrudd. Ca. 5 % av akutte respirasjonssykdommer og lungebetennelser hos barn og 10 % av febersykdommer har blitt forbundet med adenovirus-infeksjoner<sup>3,6,7</sup>. Adenovirus i øyet kan føre til faryngokonjunktival feber, follikulær konjunktivitt eller epidemisk keratokonjunktivitt<sup>3,8</sup>. Adenovirus serotype 40 og 41 er ofte knyttet til viral gastroenteritt hos spedbarn og er rapportert å være årsaken til 4-15 % av nosokomiale infeksjoner på barneavdelinger<sup>3,9,10</sup>. Hos immunokompromitterte pasienter (f.eks. transplantasjonspasienter eller AIDS-pasienter), kan det oppstå alvorlige systemiske infeksjoner som kan være livstruende<sup>3</sup>.

Laboratoriediagnoser av adenovirusinfeksjoner spiller en viktig rolle i pasientbehandlingen og gjør det mulig med effektiv behandling og kontroll av utbrudd. Diagnostiske metoder omfatter direkte påvisning av virus eller virale proteiner i kliniske prøver, isolering av levedyktige virus i cellekultur-monolag, inokulert med respiratoriske og konjunktivale prøver eller fecesprøver, eller ved påvisning av adenovirus-spesifikke immunoglobuliner<sup>3,5</sup>.

Isolering av adenovirus fra kliniske prøver kan oppnås i kontinuerlige cellelinjer av hovedsakelig epitelial opprinnelse, inkludert cellelinjene HeLa, Hep2, KB og 293, der adenovirus ofte viser en karakteristisk cytopatisk effekt<sup>3,5</sup>. En rekke teknikker har blitt brukt til å bekrefte identifikasjon av adenovirus-isolater, inkludert nøytraliseringstester, radioimmunoanalyser, DNA-hybridisering, elektronmikroskopi og typebestemmelse med DNA-elektroforese<sup>11,12,13,14,15</sup>. Disse teknikkene kan være komplekse, tungvinte, tidkrevende og ofte uegnet til rutinemessig bruk.

Adenovirus som er forbundet med viral gastroenteritt, kan påvises direkte ved elektronmikroskopi<sup>11,16</sup>. Dette er imidlertid kun mulig i spesiallaboratorier.

I den senere tid har direkte immunofluorescens-analyser (e.g. IMAGEN Adenovirus) eller enzym-immunoanalyser som bruker spesifikke monoklonale eller polyklonale antistoffer blitt fremstilt for direkte påvisning av adenovirus i kliniske prøver eller monolag i cellekulturer<sup>15,17,18</sup>.

Enzym-immunoanalyser er en rask, sensitiv og spesifikk metode for påvisning og bekreftelse av adenovirus-isolater i monolager i cellekulturer eller fecesprøver.









ProSpecT Adenovirus Mikroplateanalyse er en kvalitativ enzym-immunoanalyse for påvisning av adenovirus-serotyper i fecesprøver eller monolag i cellekulturer. Testen bruker et genus-spesifikt monoklonalt antistoff for å påvise en epitop av adenovirus-hexon-antigenet som finnes i alle humane serotyper<sup>19</sup>.

## 3. PRINSIPPET FOR TESTEN



ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse bruker et monoklonalt antistoff i en faststoff-fase sandwich enzym-immunoanalyse for å påvise en genus-spesifikk hexon-epitop i adenovirus. Avbreekbare mikrobrønner er belagt med et adenovirus-spesifikt monoklonalt antistoff. Fekal suspensjon eller væske fra utfornyede cellekulturer tilsettes mikrobrønnen og inkuberes sammen med et adenovirus-spesifikt monoklonalt antistoff som er konjugert til pepperrrot-peroksidase. Adenovirus-antigen som er til stede i prøven fanges mellom antistoffet i faststoff-fasen og det enzymkonjugerte antistoffet. Etter 60 minutters inkubasjon ved romtemperatur vaskes mikrobrønnene med vaskebuffer med funksjonsstyrke for å fjerne overflødig prøvemateriale og alle ubundne enzymmerkede antistoffer. Et kromogen tilsettes mikrobrønnene og inkuberes i 10 minutter ved romtemperatur. Forekomst av et spesifikt bundet enzymmerket antistoff i mikrobrønnene fører til en fargeendring som stanses ved å tilsette syre. En fargestyrke som ligger betydelig over bakgrunnsfargen antyder at det er adenovirus-antigen til stede i prøven eller kontrollen.

## 4. SYMBOLDEFINISJONER

Følgende symboler benyttes i produktinformasjonen.

	Produktkode og katalognummer
	Se instruksjoner for bruk
	Innholdet er tilstrekkelig for 'N' tester
	Produsert av
	Medisinsk apparat for in vitro diagnostisering
	Brukes innen
	Produksjonskode
	Oppbevaringstemperaturer

## 5. INNHOLD I SETTET

 96 - Hvert sett inneholder tilstrekkelig materiale for 96 analyser.  - Settets holdbarhetsperiode er angitt av datoen på etiketten på den ytre emballasjen.

Oppbevar alle komponenter ved 2-8 °C.

Før bruk skal alle reagenser ha romtemperatur (20-25 °C) og blandes forsiktig. Oppbevar alle ubrukte reagenser ved 2-8 °C etter bruk.

Alle reagenser unntatt vaskebufferen leveres klare til bruk. Hvis reagenser helles ut for å brukes med flerkanalpipetter, skal overflødig reagens ikke helles tilbake i flasken.



Bruksinstruksjoner  
Overføringspipetter  
Mikroplatedeksel

Innholdsattest  
Prosedyrekort

**MICROTITRATION PLATE**

Én 96 mikrotitreringsplate med 12 x 8 avbreekbare rader med mikrobrønner belagt med adenovirus-spesifikke monoklonale antistoffer. En gjenlukkelig foliepose med tørkemiddel til oppbevaring av ubrukte mikrobrønner. Mikrobrønner kan brukes inntil 16 uker etter at de åpnes for første gang, så lenge de oppbevares riktig i posen.

En flaske av hver av følgende, med mindre annet er indikert:

**SAMPLE DILUENT**

120 ml prøvetfortynner: Saltløsning med tris-buffer som inneholder et antimikrobielt stoff og rødt fargestoff.

**CONTROL +**

4 ml positiv kontroll: Inaktivert adenovirus type 7 i buffer som inneholder antimikrobielt stoff.

**CONTROL -**

4 ml negativ kontroll: Saltløsning med tris-buffer som inneholder et antimikrobielt stoff og rødt fargestoff.

**CONJUGATE**

12 ml konjugat: Adenovirus-spesifikt monoklonalt antistoff, konjugert til pepperrrot-peroksidase i en buffret proteinoppløsning som inneholder et antimikrobielt stoff og blått fargestoff.

**WASH BUFFER (x10)**

120 ml vaskebufferkonsentrat (x10): Fosfatbuffret oppløsning som inneholder antimikrobielt stoff og vaskemiddel.

Fortynn 10x vaskebufferkonsentrat ved å tilsette 1 del konsentrat til 9 deler destillert eller deionisert vann. Fortynnet vaskebuffer er stabil i inntil 30 dager når den oppbevares ved 2-8°C.

**SUBSTRATE TMB**

12 ml substrat: 3,3'-5,5'-tetrametylbenzidin i en mildt syreholdig buffer.

**STOP SOLUTION**

12 ml stoppløsning: 0,46 mol/l svovelsyre.

## 6. FORHOLDSREGLER

**IVD** - For bruk til *in vitro* diagnostisering. Personer som skal utføre analyser med dette produktet, må ha opplæring i bruken av det, og må ha erfaring med laboratorieprosedyrer.

Vennligst se dataarket for sikkerhet (SDS) og produktmerkingen for informasjon om potensielt farlige komponenter.

## INFORMASJON OM HELSE OG SIKKERHET

- Den positive kontrollen inneholder inaktivert adenovirus type 7, som har vist seg å være ikke-infeksiøs i cellekulturer. Kontrollen må imidlertid håndteres og avhendes som potensielt smittefarlig.
- Stoppløsningen inneholder svovelsyre (0,46 mol/l).
- Vaskebufferen inneholder et potensielt hudsensibiliserende stoff (<1% v/v). Unngå hudkontakt. Bruk vinyl- eller nitrilhansker til engangsbruk.
- Ikke spis, drikk, røyk, oppbevar eller tilbered mat, eller ta på kosmetikk i arbeidsområdet.
- Bruk ikke munnen til pipettering.
- Bruk engangshansker ved håndtering av kliniske prøver og reagenser. Vask alltid hendene etter arbeid med smittefarlig materiale.

- Deponer alle kliniske prøver i henhold til lokal lovgivning.
- ProSpecT Adenovirus-reagenser inneholder et proprietært antimikrobielt stoff som ikke representerer noen fare for brukeren hvis normale laboratorisikkerhetsregler følges.
- Fordi øyeområdet er spesielt utsatt for adenovirus, skal hånd til øye-kontakt omhyggelig unngås i alle stadier av prøvetestingen.

## ANALYTISKE FORHOLDSREGLER

- Komponentene må ikke brukes etter den utløpsdatoen som er trykket på etikettene. Ikke bland eller bytt om de fargede reagensene, da ytelsen kan bli kompromittert: Plate, konjugat og kontrollen.
- De følgende vanlige reagensene kan brukes med alle ProSpecT-produkter: Vaskebuffer, TMB substrat og stoppløsning.
- Unngå forurensning av reagensene.
- Når du bruker dråpeflaskemetoden må du passe på at alle kontrollene og reagensene blir tilsatt på samme måte. (Det kan gå ut over effekten hvisdet brukes en kombinasjon av pipette- og dråpetellermetode).
- Bruk separate engangspipetter eller -pipettetupper for hver prøve, kontroll eller reagens (hvis det ikke brukes dråpeflasker) for å unngå krysskontaminering av prøver, kontrollen eller reagenser, da dette vil forårsake feilaktige resultater.
- Oppbevar deionisert eller destillert vann til fortykning av konsentrerte reagenser i rene beholdere for å unngå mikrobiell forurensning.
- Unngå forurensning med metallioner og oksyderende midler.
- Ikke bruk substrat som har en blå farge før det blir tilsatt i mikrobrønnene.
- Ikke utsett substrat for lys.
- Mikrobrønner kan ikke gjenbrukes.
- Ubrukt vaskebuffer av bruksstyrke kan oppbevares i inntil 30 dager ved 2-8°C for senere bruk. Når reservoarene for vaskebuffer ikke er i bruk, bør de skylles i deionisert eller destillert vann, og settes til tørk.
- Manuelt eller automatisert vaskeutstyr må være rengjort med tanke på mikrobiell forurensning, og korrekt kalibrert i henhold til produsentens instruksjoner.
- Når det brukes reagensdråpeflasker skal flaskene holdes vertikalt med tuten ca. 5 mm over mikrobrønnen. Klem flasken **forsiktig** og pass på at dråpene faller rett inn i mikrobrønnen uten å berøre sidene på brønnen. Unngå kontaminering av dråpetellertutene.

## 7. INNSAMLING AV FECESPRØVER OG CELLEKULTURPRØVER

### INNSAMLING AV FECESPRØVER

Fecesprøver skal samles inn så snart som mulig etter at symptomene oppstår.

Peak-utskilling av adenovirus i feces fra pasienter med gastroenteritt er rapportert å oppstå 3-13 dager etter at symptomene oppstår<sup>2</sup>.

Fecesprøver for direkte testing skal samles inn i beholdere som ikke inneholder media, konserveringsmidler, animalske sera, metallioner, oksiderende stoffer eller vaskemidler, da disse tilsetningsstoffene kan påvirke ProSpecT Adenovirus-testen.

Hvis det tas rektale penselprøver, må de inneholde nok fecesmateriale til å oppnå en 10% suspensjon av feces (se avsnitt 8 A).

Prøver kan oppbevares i 8 dager ved 2-8 °C før testing. Ved lang tidlig oppbevaring skal fecesprøver oppbevares ved -20 °C.

#### **INNSAMLING AV CELLEKULTURPRØVER**

Innsamling av prøver er av fundamental betydning ved diagnose av adenovirus ved bruk av cellekultur. Prøver må samles inn fra infeksjonsstedet i løpet av tidsrommet for høyeste virale utskillelse, slik at de inneholder så mye infisert materiale som mulig. Konjunktivale penselprøver og/eller penselprøver fra halsen eller andre typer innsamlede penselprøver, skal plasseres i et viralt transportmedium som rutinemessig brukes for virusisolering og sendes til laboratoriet omgående. Den optimale tiden for prøveinnsamling er så snart som mulig etter at symptomene oppstår. Nasofaryngale aspirater eller sekresjoner skal innsamles i en slimsuger gjennom et slange av størrelse 8. Slimsugeren og slangen skal omgående sendes til laboratoriet for behandling.

#### **8. PROSEDYRE**

##### **ØDVENDIGE MATERIALER SOM MEDFØLGER**

Se Innholdet av settet, avsnitt 5

##### **ØDVENDIGE MATERIALER SOM IKKE MEDFØLGER**

Beholder for innsamling av fecesprøver

Rene engangsbeholdere med skrukork (minimum 3ml) for klargjøring av fecesprøver.

Rent absorberende papir (der mikrobrønnene kan drypptørke)  
Mikropipetter og engangstupper som kan avlevere 50µl, 100µl og 1000µl

Avfallsbeholder med egnet, nylig tilsatt desinfiseringsmiddel

Tidtakingsutstyr

Vaskeflaske for vaskebuffer

Destillert eller deionisert vann

##### **VALGFRIE MATERIALER SOM IKKE MEDFØLGER**

Mikroplateleser i stand til å avlese 450nm (med valgfri 620-650 nm referanse)

Vortex-mikser med plateadapter eller platevibrator-inkubator  
Automatisert platevasker eller egnet utstyr for vasking av 8 mikrobrønnrader

#### **PROSEDYRE**

8.1. Åpne folieposen, fjern det ønskede antall mikroplaterader og plasser i en holder for mikroplaterader. Bruk én brønn for den negative kontrollen og én brønn for den positive kontrollen. Hvis du bruker mindre enn 8 brønner, bryter du løs ønsket antall brønner fra raden og legger ubrukte brønner tilbake i folieposen med fuktighetsmiddel. LUKK POSEN OMHYGGELIG FOR HOLDE FUKTIGHET UTE OG RETURNER DEN TIL OPPBEVARING VED 2-8 °C.

#### **A. FORTYNNING AV FECESPRØVER**

Tilsett 1 ml prøvefortynner i en egnet merket beholder og bruk den til å blande en 10% suspensjon eller fortykning av en fecesprøve ved å tilsette ca. 0,1 g faste feces (på størrelse med en ert), eller ca. 100µl flytende feces ved bruk av en overføringspipette. Bland godt og la overføringspipetten være i beholderen for senere bruk.

Roter rektale penselprøver i 1ml med prøvefortynner mens penselprøven klemmes mot siden av beholderen for å frigjøre fekal materiale. Bland godt.

Fekale suspensjoner som har vært konserveret i formalin, skal fortyknes ytterligere i ProSpecT Adenovirus prøvefortynner, slik at en 10 % suspensjon av feces er blandet før testing.

Prøver som er suspendert/fortynnet i ProSpecT Adenovirus prøvefortynner kan oppbevares ved 2-8 °C i inntil 8 dager før testing.

**MERK: Fecesprøver som er blandet i ProSpecT Astrovirus, ProSpecT Rotavirus og ProSpecT Norovirus prøvefortynner kan også testes i ProSpecT Adenovirus-test. Alternative prøvefortynnere har ikke blitt validert for bruk.**

#### **B. FORTYNNING AV CELLEKULTURPRØVER**

Cellekulturprøver kan testes direkte i ProSpecT Adenovirus-testen. Prøver som er innsamlet for cellekulturer, skal inokuleres i de cellelinjene som brukes rutinemessig i laboratoriet for isolering av adenovirus, f.eks. Hep2- eller HeLa-celler. Cellekulturer skal undersøkes regelmessig for tilsynekomst av en cytopatisk effekt (CPE) som er karakteristisk for adenovirus. Adenovirus CPE kan utvikles innen 2-7 dager etter inokulering av cellelinjer, men i noen tilfeller kan det ta inntil 28 dager. Kulturvæske fra celle-monolag som viser en CPE kan innsamles og testes direkte for forekomst av adenovirus ved bruk av en ProSpecT Adenovirus test.

Cellekulturinnsamlinger skal oppbevares ved 2-8 °C og må testes innen 72 timer etter innsamling. Ved langtidlig oppbevaring av cellekulturinnsamlinger, skal de oppbevares ved -20 °C eller kaldere.

8.2. Tilsett 2 dråper (eller 100 µl) fra hver fortynt prøve, cellekulturvæske, negativ kontroll, positiv kontroll i separate mikrobrønner. Minst én negativ kontroll og én positiv kontroll skal inkluderes i hver gruppe med tester.

8.3. Etter tilsetning av alle prøver og kontroller, tilsett 2 dråper (eller 100 µl) konjugat i hver mikrobrønn og bland forsiktig i 20-30 sekunder.

8.4. Dekk platen og inkuber i 20-30 °C i 60 +/- 5 minutter.

8.5. Rist ut eller aspirer innholdet av brønnene. Vask ved å fylle hver brønn fullstendig med fortynt vaskebuffer (~350-400 µl per brønn). Rist ut eller aspirer all væske fra brønnene etter hver vask. Vask 5 ganger totalt. Etter siste vask skal du fjerne innholdet og dunke platen mot rene papirhåndklær eller aspirere. Hvis det brukes en automatisert vasker, bør den programmeres for å fullføre 5 vaskesykluser. Vaskere må kalibreres riktig for å sikre fullstendig fylling og tømning av mikrobrønnene mellom hver vask. Etter siste vask, bør platen snues opp-ned og dunkes mot absorberende papir, for å fjerne rester av vaskebufferen.

8.6. Tilsett 2 dråper (eller 100 µl) substrat til hver mikrobrønn.

8.7. Dekk platen og inkuber i 20-30 °C i 10 minutter.

8.8. Mikrobrønner kan leses visuelt like etter den andre inkubasjonen (se avsnitt 9 og 10).

8.9. Alternativt kan substratreaksjonen stoppes ved å tilsette 2 dråper (eller 100 µl) stoppløsning i hver mikrobrønn. Pass på at mikrobrønnene er godt blandet før resultatet avleses. Det fargede produktet er stabilt i inntil 30 minutter etter at stoppløsning er tilsatt.

8.10. Avleses spektrometrisk ved 450 nm (se avsnitt 9 og 10).

#### **9. KVALITETSKONTROLL**

Minst én negativ kontroll og én positiv kontroll skal inkluderes hver gang testen utføres.

#### **VISUELL BESTEMMELSE**

Alle mikrobrønner med negativ kontroll skal være fargeløse. Hvis dette ikke er tilfellet, skal testresultatene ikke bestemmes visuelt.

Mikrobrønner med positiv kontroll skal ha en tydelig blå farge, lett å skille fra den negative kontrollen.

#### **SPEKTROFOTOMETRISK BESTEMMELSE**

Den negative kontrollverdien, eller den gjennomsnittlige negative kontrollverdien, skal være mindre enn 0,150 absorpsjonsheter.

Den positive kontrollverdien må være større enn 0,500 absorpsjonsheter.

#### **10. RESULTATER**

##### **VISUELL BESTEMMELSE**

Alle prøver som har en blå farge som er mer intens enn den negative kontrollen, er positive. Alle prøver som har en farge som er lik eller mindre intens enn den negative kontrollen, er negative. Mikrobrønner der fargeintensiteten er vanskelig å tyde når den sammenlignes med den negative kontrollen skal avleses fotometrisk etter tilsetning av stoppløsning.

##### **SPEKTROFOTOMETRISK BESTEMMELSE**

10.1. Mikrobrønnene bør avleses fotometrisk innen 30 minutter etter tilsetning av stoppløsningen.

10.2. Bland innholdet i mikrobrønnene og les av absorpsjonen i hver mikrobrønn ved å bruke et spektrofotometer ved 450 nm. Pass på at bunnen av mikrobrønnene er rene før avlesning. Leseren skal nullstilles med luft før platen skannes.

10.3. Hvis spektrometeret tillater bruk av en bølgelengde for referanse (620 til 650 nm), skal det utføres to bølgelengdeavlesninger.

10.4. Kalkuler cut-off-verdien ved å legge 0,100 absorpsjonsheter til den negative kontrollverdien, eller gjennomsnittsverdien når mer enn én negativ kontroll er inkludert.

10.5. Tyding av testresultatene:

Positiv:        valore di assorbanza del campione clinico > del valore cut-off

Negativ:        valore di assorbanza del campione clinico < del valore cut-off

Tvetydig:        Klinisk absorpsjonsverdi for testen innen 0,010 absorpsjonsverdier fra cut-off-verdien. Disse prøvene skal testes på nytt eller nye prøver skal tas fra pasienten.

#### **11. BEGRENSNINGER**

11.1. Validiteten for resultatene med ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse avhenger av at kontrollreaksjonene fungerer som ventet. Se Kvalitetskontroll del 9.

11.2. Et negativt testresultat utelukker ikke muligheten for at pasienten kan være infisert med adenovirus. Hvis adenovirus ikke påvises, kan det være et resultat av at prøven ble tatt på galt tidspunkt i sykdommen da det var for få virioner til stede, feil prøvetaking eller feil håndtering av prøven eller en feil ved cellekulturen.

11.3. ProSpecT Adenovirus -testen påviser et genusspesifikt hekson-antigen som finnes i alle humane serotyper. Testen kan ikke brukes til å differensiere mellom serotyper.

11.4. Reagensene har faste brukskonsentrasjoner. Modifisering av reagensene eller lagring ved andre forhold enn de som er beskrevet i avsnitt 5, vil påvirke ytelsen av testen.

11.5. Et negativt resultat for fecesprøver betyr ikke at infeksjon med non enteriske adenovirus i andre deler av kroppen kan utelukkes. Hvis det er mistanke om en respiratorisk eller optalmisk infeksjon, skal prøver fra infeksjonsstedet dyrkes.

11.6. Alle positive resultater skal tolkes sammen med pasientrelatert klinisk informasjon, da adenovirus kan være latente og kan blusse opp på nytt. Asymptomatisk utskillelse av virus kan forekomme inntil 18 måneder etter infeksjonen<sup>20</sup>. Enteriske adenovirus kan forekomme i fecesprøver fra asymptomatiske barn<sup>21</sup>.

11.7. Bruk av ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse for direkte testing av andre prøver enn fecesprøver er ikke anbefalt, da utilstrekkelig innhold av antigen eller inadekvat innsamling av prøver kan gi villedende eller negative resultater. Et positivt resultat fra fecesprøver sammen med diaré, gir stor sannsynlighet for adenoviral gastroenteritt<sup>10</sup>. Adenovirustypene 40, 41, og noen ganger 31, er oftest forbundet med gastroenteritt.

11.8. Et positivt resultat utelukker i forekomst av andre enteriske patogener. Selv om forholdet mellom adenovirus og gastroenteritt er veletablert, er sammenfallende infeksjoner med andre mikrobielle patogener mulig.

11.9. Mekonium-prøver er ikke validert for bruk med ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse.

11.10. Testresultatene bør tolkes sammen med tilgjengelig informasjon fra epidemiske undersøkelser, klinisk vurdering av pasienten og andre diagnostiske prosedyrer<sup>20</sup>.

#### **12. FORVENTEDE VERDIER**

Positivitetsraten kan variere i henhold til utbredelsen av adenovirus i forskjellige populasjoner, geografisk sted, prøveinnsamling, håndtering, oppbevaring og transport av prøver, det cellekultursystemet som brukes og det generelle helsemiljøet for den pasientpopulasjonen som studeres.

Frekvensen av adenovirusinfeksjon vil variere med det kliniske syndromet og personens alder. Hos barn under 5 år er ca. 5 % av akutte respirasjonssykdommer forårsaket av adenovirus<sup>22</sup>.

Ca. 10% av lungebetennelser i barndommen kan være forårsaket av adenovirus<sup>6</sup>. Akutt hemoragisk cystitt hos barn kan være forårsaket av adenovirus i 20-70 % av tilfellene<sup>23,24</sup>. Enteriske adenovirus (type 40 og 41) har vært antydnet som den forårsakende organismen i ca. 10 % av tilfellene av pediatrik gastroenteritt og oppstår oftest hos barn under 2 år<sup>10</sup>.

Hos voksne har adenovirus noen ganger vært forbundet med cervicitt<sup>25</sup>, og i akutte respiratoriske sykdommer, særlig hos militære rekrutter<sup>26</sup>. Okulare infeksjoner på grunn av adenovirus, som epidemisk karatokonjunktivitt og såkalt "svømmebasseng-konjunktivitt" kan oppstå i alle aldersgrupper<sup>27,28</sup>. Alle pasientgrupper med immunosuppresjon kan bli infisert med adenovirus<sup>29,30</sup>.

### 13. YTELSEKARAKTERISTIKKER

#### SENSITIVITET OG SPESIFISITET

ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse er evaluert i kliniske studier ved fire sentre. Studiene ble utført på fecesprøver som ble tatt fra pasienter med gastroenteritt, og på monolag fra cellekulturer inokulert med kliniske prøver fra pasienter der det var mistanke om adenovirusinfeksjon. Resultatene fra ProSpecT Adenovirus mikroplateanalyse ble sammenlignet ned elektronmikroskopi (EM) for fecesprøver og med viral nøytraliseringsprøve for cellekulturprøver.

Totalt 176 fecesprøver og 153 cellekulturprøver ble testet. Resultatet av disse studiene er vist i tabell 13.1 og 13.2.

#### 13.1. Fecesprøver

Når fecesprøver ble testet, viste ProSpecT Adenovirus-testen en korrelasjon på 95,5 % (168/176) med elektronmikroskopi. Den generelle sensitiviteten og spesifisiteten for ProSpecT Adenovirus-testen var 90,1 % (64/71) og 99,0 % (104/105) når den ble sammenlignet med EM.

**Tabell 13.1 Sammenligning av ProSpecT Adenovirus med elektronmikroskopi for fecesprøvetesting**

METODE	EM	
	+	-
ProSpecT Adenovirus	64	1*
	7**	104
Sensitivitet	90,1 %	
Spesifisitet	99,0 %	
Korrelasjon	95,5 %	

\* Utilstrekkelig prøvemengde for gjentatt testing.

\*\* Alle prøvene ble rapportert å ha sporadiske viruspartikler ved EM og uspesifiserte Adenovirusarter ble isolert fra 5 prøver (type 2, 4 og 5).

#### 13.2. Cellekulturprøver

Når cellekulturprøver ble testet, viste ProSpecT Adenovirus-testen en korrelasjon på 98,0 % (150/153) med viral nøytraliseringsprøve for cellekulturer. Den generelle sensitiviteten og spesifisiteten for ProSpecT Adenovirus-testen var 97,6 % (82/84) og 98,6 % (68/69) ved sammenligning med viral nøytraliseringsprøve.

**Tabell 13,2 Sammenligning av ProSpecT Adenovirus med virale nøytraliseringsprøver på cellekulturisolater.**

METODE	VIRAL NØYTRALISERING	
	+	-
ProSpecT Adenovirus	82	1
	2	68
Sensitivitet	97,6%	
Spesifisitet	98,6%	
Korrelasjon	98,0%	

### BEGRENSNINGER

En adenovirus-positiv fecesprøve der det beregnede viruspartikkelantallet per ml var fastsatt ved EM, ble fortynnet flere ganger etter hverandre og testet med ProSpecT Adenovirus-testen for å fastsette påvisningsgrensen (se tabell 13.3). Resultatene viste at et samlet adenoviruspartikkelantall så lavt som 3,0 x 10<sup>5</sup> per ml kan påvises ved ProSpecT Adenovirus-testen.

**Tabell 13.3 Absorpsjonsverdier (A<sub>450</sub>) oppnådd med titreringer av en fecesprøve som inneholdt adenovirus**

Viruspartikler/ml (EM)	Gjennomsnittlig absorpsjonsavlesning ved bruk av ProSpecT Adenovirus
1,9x10 <sup>7</sup>	1,85
4,8x10 <sup>6</sup>	1,75
1,2x10 <sup>6</sup>	0,84
5,9x10 <sup>5</sup>	0,45
3,0x10 <sup>5</sup> *	0,21
7,4x10 <sup>4</sup>	0,10

\* Endepunktskonsentrasjon av adenovirus påvist med ProSpecT Adenovirus.

### PREISISJON

#### Intra analysepresisjon

Intra-analysepresisjonen ble vurdert med tre fekale prøver og tre cellekulturprøver. Hver prøve ble testet 32 ganger i en enkelt analyse og gjennomsnittlig variasjon og variasjonskoeffisient ble fastsatt (n=32)

**Tabell 13.4 Intra-analysepresisjon for ProSpecT Adenovirus-testen**

Prøvestatus	Cellekulturprøver		Fecesprøver	
	Gjennomsnittlig Au	% CV	Gjennomsnittlig Au	% CV
Negativ	0,05	5,5	0,05	10,8
Positiv	0,36	5,6	0,42	10,5
Positiv	2,89	4,2	2,34	8,4

#### Inter-analyse

Inter-analysepresisjon ble vurdert med tre fekale prøver og tre cellekulturprøver. Hver prøve ble testet i 12 forskjellige analyser og gjennomsnittlig variasjon og variasjonskoeffisienten ble fastsatt (n=24)

**Tabell 13.5 Inter-analysepresisjon for ProSpecT Adenovirus-testen**

Prøvestatus	Cellekulturprøver		Fecesprøver	
	Gjennomsnittlig Au	% CV	Gjennomsnittlig Au	% CV
Negativ	0,05	7,3	0,05	7,6
Positiv	0,24	8,6	0,33	5,4
Positiv	2,02	5,3	1,75	7,9

### KRYSSREAKSJONER

De følgende mikroorganismene ble testet og vist negative i ProSpecT Adenovirus-testen. Kryssreaksjonstester ble utført enten på kliniske prøver der den mikrobielle statusen var fastsatt, eller på laboratoriekulturer med kjente organismer, ca. 10<sup>7</sup>-10<sup>8</sup> levedyktige organismer/ml.

#### Virus

Astravirus  
Coxsackie-virus A16, B2, B3, B4, B5  
Cytomegalovirus  
Echovirus 9, 11, 22, 32  
Enterovirus  
Epstein-Barr-virus  
Foamy-virus  
Herpes simplex virus type 1 og 2  
Influenzavirus A og B  
Koppevirus  
Koronavirus  
Kusmavirus  
Meslingvirus  
Parainfluenza 1, 2, 3, 4a, 4b  
Polio-virus type 1, 2 og 3  
Respiratorisk syncytiet virus  
Rhinovirus  
Rotavirus  
Sendai-virus  
Små runde strukturerte virus

#### Bakterier

Acholeplasma laidlawii  
Aeromonas spp  
Bacillus spp  
Bordetella pertussis  
Branhamella catarrhalis  
Campylobacter spp  
Chlamydia pneumoniae  
Chlamydia trachomatis  
Clostridium difficile (toksin)  
Clostridium perfringens (toksin)  
Clostridium spp  
Corynebacterium sp  
Enteropathogenic E. coli  
Enteropathogenic E. coli  
Escherichia coli  
Haemophilus influenzae  
Klebsiella pneumoniae  
Lactobacillus spp

#### Legionella spp

Listeria monocytogenes  
Mycobacterium avium  
Mycobacterium intracellulare  
Mycobacterium tuberculosis  
Mycoplasma arginini  
Mycoplasma hominis  
Mycoplasma hyorhinis  
Mycoplasma orale  
Mycoplasma pneumoniae  
Mycoplasma salivarium  
Neisseria flavescens  
Neisseria lactamica  
Neisseria meningitidis A, B, C og D  
Neisseria mucosa  
Neisseria perflava  
Neisseria pharyngis  
Plesiomonas shigelloides  
Pseudomonas aeruginosa  
Salmonella agona  
Salmonella enteritidis  
Salmonella typhimurium  
Salmonella virchow  
Shigella dysenteriae  
Shigella sonnei  
Staphylococcus aureus  
Streptococcus pneumoniae  
Streptococcus spp  
Vibrio alginolyticus  
Vibrio cholerae  
Vibrio haemolyticus  
Protozoa  
Cryptosporidium sp  
Giardia lamblia  
Andre mikroorganismer  
Candida spp  
Microsporium spp  
Pneumocystis carinii  
Trichuris trichiura

### 14. BIBLIOGRAFI

#### 1. Francki R.I.B., Fauquet C.M., Knudson D.L. and Brown F. (1992)

Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology Supplement 2. Springer Verlag. New York. pp140 -144

#### 2. Rosen L. (1960)

Haemagglutination inhibition technique for typing adenoviruses. American Journal of Hygiene 71: 120-128

#### 3. Wadell G. (1990)

Adenoviruses. In Principles and Practice of Clinical Virology (eds A.J. Zuckerman et al) John Wiley and Sons Ltd, p 267-287

#### 4. Albert M.J. (1986)

Enteric Adenoviruses Archives of Virology 88: 1-17

#### 5. Horowitz M.S. (1985)

Adenoviral diseases. In Virology (eds B.N. Fields et al) Raven Press New York pp 477-495.

#### 6. Mallett R., Ribierre M., Bonnenfant F., Labrune B. and Reyrole L. (1966)

Les pneumopathies graves à adeno virus. Archives FR Pediatrics 23: 1057-1073

#### 7. Pacini D.L., Collier A.M. and Henderson F.W. (1987)

Adenovirus Infections and Respiratory Illness in Group Day Care. Journal of Infectious Diseases 156: 920-927

#### 8. Ford E., Nelson K.E. and Warren D. (1987)

Epidemiology of Epidemic Keratoconjunctivitis Epidemiological Reviews 9: 244-261

#### 9. Madeley C.R. (1986)

The emerging role of adenoviruses as inducers of gastroenteritis. Paediatric Infectious Diseases 5: 563-574

#### 10. Uhnoo I., Wadell G., Svensson L. and Johansson M.E. (1984)

Importance of Enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. Journal of Clinical Microbiology 20: 365-372

#### 11. Miller S.E. (1986)

Detection and Identification of Viruses by Electron Microscopy. Journal of Electron Microscopy Technique 4: 265-301

#### 12. Darougar S., Walpita P., Thaker U., Viswalingham N. and Wishart M.S. (1984)

Rapid Culture Test for adenovirus isolation. British Journal of Ophthalmology 68: 405-408

#### 13. Kidd A.M., Harley E.M. and Erasmus M.J. (1985)

Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot blot hybridisation. Journal of Clinical Microbiology 22: 934-939

#### 14. Gomes S.A., Nascimento J.P., Siquera M.M., Krawczuk M.M., Pereira H-G. and Russell W.C. (1985).

In situ hybridisation and biotinylated DNA probes: a rapid diagnostic test for adenovirus upper respiratory infections. Journal of Virological Methods 12: 105-110

#### 15. Lehtomaki K., Julkunen I., Sandelin K., Salonen J., Virtanen M.,

Ranki M. and Hovi T. (1986). Rapid diagnosis of respiratory adenovirus infections in young adult men. Journal of Clinical Microbiology 24: 108 111

#### 16. Wood D.J. and Bailey A.S. (1987)

Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in stool specimens by Immune Electron Microscopy. Journal of Medical Virology 21: 191-199

#### 17. Pereira H.G., Azeredo R.S., Leite J.P.G., Andrade Z.P. and De Castro L. (1985)

A combined enzyme immunoassay for Rotavirus and Adenovirus. Journal of Virological Methods 10: 20-28

#### 18. August M.J. and Warford A.L. (1987)

Evaluation of a commercial monoclonal antibody for detection of Adenovirus antigen. Journal of Clinical Microbiology 25: 2233-2235

#### 19. Cepko C.L., Whetstone C.A. and Sharp P.A. (1983)

Adenovirus hexon monoclonal antibody that is group specific and potentially useful as a diagnostic reagent. Journal of Clinical Microbiology 17: 360 364

#### 20. Greenburg S.B. and Krilov L. (1986)

Laboratory diagnosis of viral respiratory disease. Cumitech, No. 21, ASM Drew W.L., Rubin S.J. editors.

#### 21. Cukor G. and Blacklow N.R. (1984)

Human viral gastroenteritis. Microbiological Reviews. 48: 157 179

#### 22. Brandt C.D., Kim H.W., Vargosko A.J., Jeffries B.C., Arrobbio J.O., Rindge B., Parrott R.H. and Chanock R.M. (1969)

Infections in 18,000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. American Journal of Epidemiology 90: 484 500

#### 23. Mufson M.A., Belshe R.B., Horrigan T.J. and Zollar L.M. (1973)

Cause of acute haemorrhagic cystitis in children. American Journal of Diseases of Children 126: 605 609

- 24. Numazaki Y., Kumasaka T., Yano N., Yamanaka M., Miyazawa T., Takai S. and**  
Ishida N. (1973)  
Further study on acute haemorrhagic cystitis due to adenovirus type 11.  
*New England Journal of Medicine* **289**: 344.347
- 25. Lavery C.R., Russell P., Black J., Kappagoda N., Benn R.A.V. and Booth N. (1977)**  
Adenovirus infection of the cervix.  
*Acta cytology* **21**: 114 117
- 26. Mogabgab W.J. (1968)**  
Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel. 1959 1966.  
*American Review of Respiratory Diseases* **97**: 345 358
- 27. Kemp M.C., Hierholzer J.C., Cabradilla C.P. and Obijeski J.F. (1983)**  
The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period.  
*Journal of Infectious Diseases* **148**: 24 33
- 28. Foy H.M., Cooney M.K. and Hatlen J.B. (1968)**  
Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittent chlorination of a swimming pool.  
*Archives Environmental Health* **17**: 795 802
- 29. De Jong P.J., Valderrama G., Spigland I. and Horwitz M.S. (1983)**  
Adenovirus isolates from urine of patients with acquired immunodeficiency syndrome.  
*Lancet* **1**: 1293 1296
- 30. Siegal F.P., Dikman S.H., Arayata R.B. and Bottone E.J. (1981)**  
Fatal disseminated adenovirus 11 pneumonia in an agammaglobulinaemic patient.  
*American Journal of Medicine* **71**: 1062 1067
- 31. Hongju Wu, Igor Dmitriev, Elena Kashentseva, Toshiro Seki, Minghui Wang, and David T. Curiel (2002)**  
Construction and characterization of adenovirus serotype 5 packaged by serotype 3 hexon.  
*Journal of Virology* **76** (24): 12775 12782



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

ProSpecT Adenovirus  
IFU X7597B Revidert Mars 2013