



Diarlex® Rota –Adeno

Diarlex® Rota

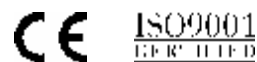
Diarlex® Adeno

Kat. č. 67491

Kat. č. 67487

Kat. č. 67488

Návod k použití



Vysvětlení symbolů použitých na štítcích

Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



Katalogové číslo



Číslo šarže



Teplotní rozmezí: skladujte při teplotě 2...25°C



Použitelné do



Viz návod k použití



Obsah



Reagencie



Pufr



Rota pozitivní kontrola



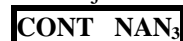
Adeno pozitivní kontrola



Původ králíčků



Obsahuje azid sodný



Diarlex® Rota –Adeno
Diarlex® Rota
Diarlex® Adeno

Kat. č. 67491
Kat. č. 67487
Kat. č. 67488

1. Určený účel použití a indikace k použití

Diarlex Rota-Adeno, Diarlex Rota a Diarlex Adeno jsou rychlé testy založené na aglutinaci suché kapky latexu.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

Diarlex Rota-Adeno vysušený latex umožňuje spolehlivou detekci **rotavirových a adenovirových** antigenů ve stolici pacientů s akutní gastroenteritis.

Diarlex Rota vysušený latex umožňuje spolehlivou detekci **rotavirových** antigenů ve stolici pacientů s akutní rotavirovou gastroenteritis.

Diarlex Adeno vysušený latex umožňuje spolehlivou detekci **adenovirových** antigenů ve stolici pacientů s akutní adenovirovou gastroenteritis.

2. Klinický význam

Rotavirus je nejčastější kauzativní agens u virových gastroenteritid, zejména u dětí¹. Rotavirová diarrhoea může být vážná, ústící v dehydrataci a v porušení rovnováhy tělních elektrolytů. Diagnóza rotavirové gastroenteritidy je založena na přítomnosti rotavirových částic ve stolici. Rotavirové částice jsou vylučovány ve velkém množství, takže je lze zjistit elektronovou mikroskopií nebo detekovat imunologickými metodami.

Adenovirus je druhým nejčastěji detekovaným virovým agens gastroenteritid v dětském věku². Některé adenovirové serotypy byly odhaleny také jako respirační a oční patogeny³. Je známo 41 serotypů adenovirů. Adenoviry serotypu 1-39 jsou nejčastěji přenášeny přes respirační a oční sekreci, zatímco serotypy 40 a 41 jsou přenášeny cestou fekálně-orální a jsou spojeny s gastroenteritidou⁴. Pokud jsou vylučovány nekultivovatelné adenovirové částice stolicí ve spojitosti s průjmem je vysoce pravděpodobné, že jde o adenovirovou gastritidu⁵.

Adenovirové a rotavirové částice mohou být sledovány v elektronovém mikroskopu nebo detekovány imunologickými metodami. V současné době mezi dostupné imunologické metody patří latexová aglutinace, imunochromatografické testy a enzymoimunoanalýza.

3. Princip testu

Diarlex Rota-Adeno, Diarlex Rota a Diarlex Adeno testy jsou latexové testy, kde latexová reagenzie je vysušena na kruhu testovací karty v podobě suché červené kapky. Každá kapka je označena jako „Rota“, „Adeno“ nebo „Control“ (kontrola), čímž se indikuje použitý latex. V suchých latexových testech Diarlex jsou použity králičí protilátky proti rotaviru a králičí protilátky proti adenoviru, které jsou navázány na červeném latexu. Jestliže vzorek obsahuje rotavirové nebo adenovirové částice (antigen), vytvoří se komplex antigen-protilátka zviditelněný aglutinací latexových částic. Každá karta obsahuje kontrolní latexovou reagenzi, která obsahuje nespecifické králičí protilátky vázané na červené latexové částice. Nespecifické aglutininy vzorku jsou tak odhaleny viditelnou aglutinací kontrolního latexu. V těchto případech neinterpretujte žádnou aglutinaci testovacích latexových reagenzií.

4. Obsah kitu

Diarlex Rota-Adeno, Kat.č.67491

Testovací karty	20 (4x5)
Rota pozitivní kontrola	0,5 ml
Adeno pozitivní kontrola	0,5 ml
Roztok pufru	90 ml
Míchací tyčinky	~60 ks
Sáček pro uchovávání testovacích karet	1 ks
Návod k použití	1 ks

Diarlex Rota, Kat.č.67487

Testovací karty	20 (4x5)
Rota pozitivní kontrola	0,5 ml
Roztok pufru	90 ml
Míchací tyčinky	~30 ks
Sáček pro uchovávání testovacích karet	1 ks
Návod k použití	1 ks

Diarlex Adeno, Kat.č.67488

Testovací karty	20 (4x5)
Adeno pozitivní kontrola	0,5 ml
Roztok pufru	90 ml
Míchací tyčinky	~30 ks
Sáček pro uchovávání testovacích karet	1 ks
Návod k použití	1 ks

Testovací karty:

ROTA testovací kruh:

Králičí protilátky proti rotaviru vázané na červené latexové částice.

ADENO testovací kruh:

Králičí protilátky proti adenoviru vázané na červené latexové částice.

CONTROL (kontrolní) kruh:

Neimunizovaný králičí globulin vázaný na červené latexové částice.

Diarlex Rota Positive Control (Rota pozitivní kontrola)

Purifikovaný a naředěný hovězí rotavirový antigen.

Diarlex Adeno Positive Control (Adeno pozitivní kontrola)

Purifikovaný a naředěný antigen lidského adenoviru.

Diarlex pufr

Tris pufr, 0,05M, pH 7,2.

Reagencie obsahují azid sodný, čtěte proto „Upozornění a varování“.

5. Materiály potřebné, ale nedodávané s kitem

- Filtrační lahvičky pro odběr vzorku stolice, kat. č. 68312
- nebo
- Zkumavky pro ředění vzorků stolice
 - Vibrační míchadlo
 - Centrifuga
 - Pipety a špičky

6. Upozornění a varování

Varování s ohledem na zdraví a bezpečnost

- Pro diagnostické použití *in vitro*.

- Tekuté reagentie obsahují < 0,1% azidu sodného jako konzervační činidlo. Azid sodný uvolňuje toxický plyn, pokud je v kontaktu s kyselinami. Azidy mohou reagovat s kovovými uzávěry za tvorby explozivních látek. Tvorbě azidů lze předejít tím, že při likvidaci reagentií opláchnete materiály velkým množstvím vody.
- Nepijte roztok ve filtrační nádobě, ani v lahvičce s pufrem .
- Nekuřte, nejezte, ani nepijte v místech, kde pracujete se vzorky nebo reagentiemi.
- Se všemi vzorky pacientů zacházejte jako s materiály schopnými přenášet infekční agens.
- Při práci se vzorky a testem používejte ochranné rukavice a po práci si důkladně umyjte ruce.
- Ačkoliv materiály neobsahují rotavirové nebo adenovirové infekční agens, jsou lidského původu, a proto je třeba s nimi zacházet a je likvidovat jako materiály s potenciálním biologickým rizikem.
- Ukápnutý potenciálně infekční materiál je nutno okamžitě utřít buničitou vatou a kontaminovaná místa okamžitě otřít standardním dezinfekčním prostředkem nebo 70% ethylalkoholem. Použité materiály pro čištění, včetně rukavic, umístěte do sběrné nádoby pro biologicky nebezpečný odpad.
- Likvidace: viz.kapitola 15 „Doporučení pro likvidaci“.

Analytická varování

- Signifikantnost výsledku je třeba hodnotit v souvislosti s klinickými symptomy pacienta.
- Nepoužívejte reagentie po indikované expirační době.
- Nemíchejte reagentie ze souprav různých šarží.
- Nepoužívejte zředěné vzorky, které nebyly připraveny podle těchto návodu. Používejte pouze vzorky stolice.
- Lepkává suchá kapka ukazuje na to, že reagentie byla vystavena vlhkosti a nadměrnému teplu, proto by neměla být používána.
- Nepoužívejte kit, jestliže Diarlex Rota pozitivní kontrola nezpůsobí aglutinaci v kruhu ROTA.
- Nepoužívejte kit, jestliže Diarlex Adeno pozitivní kontrola nezpůsobí aglutinaci v kruhu ADENO.
- Nepoužívejte kit, jestliže Diarlex pufr (použit také jako negativní kontrola), způsobí aglutinaci v kterémkoli z kruhů.
- Nápadná turbidita jakékoli z pozitivních kontrol může být známka kontaminace reagentií. Nepoužívejte soupravu, pokud kontroly nepracují, jak očekáváte.

7. Skladování a expirační doba

Skladujte při teplotě 2...25° C. Soupravu před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu (18...25°C). Expirační doba je vytištěna na balení. Nepoužívejte reagentie po expiračním datu.

Poznámka! Balení obsahující nepoužité testovací karty je nutno po otevření uchovávat v dodávaném speciálním plastickém sáčku, který je nutno pečlivě uzavírat. Z balení karet neodstraňujte váček se silica gelem.

8. Odběr vzorku a manipulace s ním

Testovány mohou být jak vzorky pevné, tak řídké stolice odebrané do čistých plastických kontejnerů nebo vzorky získané z potřísněných plenek. S testem mohou interferovat konzervanty, vysoké koncentrace detergentů nebo suspenze stolice s médii obsahujícími séra, proto by neměly být používány. Používejte pouze pufr dodávaný s produkty Diarlex nebo Rotalex/Adenolex anebo filtrační odběrové lahvičky (Faecal Specimen Filtration Vials).

Mekonium nesmí být použito jako vzorek.

Doporučujeme vzorky stolice ředit puftrem a okamžitě analyzovat.

Je-li to nezbytné, lze stolicí před analýzou několik dní při 2...8°C. Neřaděné vzorky stolice lze skladovat při teplotě -18° C a nižší po dobu několika měsíců. Vzorek opakovaně nerozmrazujte a nemražte, ani pro skladování nepoužívejte auto-rozmrazovací mrazničky, mohlo by to způsobit chybné výsledky.

Optimální doba pro testování rotavirové infekce leží v době prvních 3-5 dní po nástupu symptomů¹. Doporučujeme odebrat vzorek kdykoli během této doby. Vzorek odebraný 8 a více dní po začátku symptomů rotavirové infekce by již nemusel obsahovat dostatečný počet rotavirových částic k tomu, aby reakce s testem Diarlex byla pozitivní.

Vzorek můžeme připravovat jak filtrační metodou (8.1), tak metodou centrifugační (8.2).

8.1. Metoda s použitím filtračních lahviček pro odběr vzorku stolice (Obr./Fig. 1 – 2)

1. Vytemperujte vzorek i filtrační lahvičky na laboratorní teplotu (18...25°C).
2. Na každou lahvičku nalepte štítek s identifikačními daty pacienta.
3. Otevřete víčko a odeberte vzorek stolice ve velikosti 2 plných lžiček (~ 1 ml) lžičkou připevněnou ve víčku lahvičky. Vzorek odeberete do lahvičky, kterou pečlivě uzavřete.
4. Lahvičku promíchejte, aby se vzorek v pufru dobře rozmíchal. Nepoužívejte vibrační míchadlo.

Řaděné vzorky lze uchovávat 10 dní při 2...8°C. Řaděné vzorky nesmí být zmrazeny.

8.2. Centrifugační metoda

1. Nařeďte vzorky stolice 1:10 (1+9, tj. 0,5 ml + 4,5 ml) s roztokem pufru ve zkumavce.
2. Důkladně promíchejte ručně nebo na vibračním míchadle.
3. Centrifugujte 10 minut, přibližně 1000 x g (tj. přibl.3000 rpm).

Supernatant lze skladovat 10 dní při teplotě 2...8°C. Testujte pouze čistý supernatant.

9. Pracovní postup

Před použitím vytemperujte řaděný vzorek a testovací kit na laboratorní teplotu (18...25°C).

1. A) Filtrační metoda

Důkladně promíchejte obsah filtrační nádoby. Odstraňte klobouček ze špičky víčka. Lahvičku obraťte dnem vzhůru a odkápněte prvních 5 kapek mimo test (Obr./Fig.3).

B) Centrifugační metoda

Jako vzorek použijte čistý supernatant.

2. Umístěte jednu kapku filtrátu nebo supernatantu (asi 50 µl) do reakčního kruhu testovací karty v blízkosti červené suché latexové kapky (Obr./Fig. 4).

3. Pečlivě promíchejte suchou červenou kapku s kapkou vzorku; pro každý kruh použijte čistý konec míchací tyčinky. Směs rozprostřete rovnoměrně po celé ploše kruhu. Po použití míchací tyčinky zlikvidujte (Obr./Fig.5).
4. Testovací kartu naklánějte z jedné strany na druhou. Během 2 minut se objeví aglutinace (Obr./Fig.6).

Obrázky viz. originální příbalová informace.

9.2. Interpretace výsledků

Signifikance výsledků testu by měla být hodnocena ve spojitosti s klinickými symptomy pacienta.

Pozitivní výsledek

Výsledek je pozitivní, jestliže se během 2 minut objeví aglutinace v kruhu s testovací latexovou reagentií a v kruhu s kontrolní latexovou reagentií není za stejnou dobu aglutinace žádná. Aglutinace může být úplná (červené granule na bílém podkladě) nebo částečná (granule jsou viditelné, ale podklad zůstává matný).

Negativní výsledek

Výsledek je negativní, jestliže se ani v kruhu s testovací latexovou reagentií, ani v kruhu s kontrolní latexovou reagentií neobjeví během 2 minut aglutinace.

Neinterpretovatelný výsledek

Agglutinace v kruhu s kontrolní latexovou reagentií indikuje přítomnost nespecifických aglutininů ve vzorku stolice. Vzorek tedy nemůže být touto metodou testován.

10. Kontrola kvality

Funkční způsobilost testu můžete zkontrolovat tak, že místo vzorku použijete jednu kapku Diarlex Rota Positive Control nebo Diarlex Adeno Positive Control, které obsahují inaktivované virové antigeny.

11. Analytické parametry měření

Byla provedena studie na virologickém oddělení Helsinské university, ve které bylo použito 181 vzorků mražené stolice a přítomnost rotaviru byla sledována latexovou aglutinací Diarlex Rota a elektronovou mikroskopií (EM). Viz. tabulka 1.

Tabulka 1 Výsledky		EM	
		+	-
Diarlex Rota	+	87	1
	-	6	87

Citlivost 93,5% (86,5% až 97,6%)*

Specifická 98,9% (93,8% až 100%)*

Dohoda 96,1%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

Ve studii na virologickém oddělení Helsinské university, ve které bylo použito 121 vzorků mražené stolice, byla sledována přítomnost adenoviru latexovou aglutinací Diarlex Adeno a elektronovou mikroskopií (EM). Viz. tabulka 2.

Tabulka 2 Výsledky		EM	
		+	-
Diarlex Adeno	+	33	0
	-	5	83

Citlivost 86,8% (71,9% až 95,6%)*

Specifická 100% (95,7% až 100%)*

Dohoda 95,9%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

Srovnávací studie mezi mokrou a suchou formou

Studie 1. Ve studii na virologickém oddělení Helsinské university, ve které bylo použito 146 + 4 = 150 vzorků mražené stolice (4 vzorky byly pozitivní jak s Rotalex testovací latexovou reagensí, tak s Rotalex kontrolní latexovou reagensí) byla sledována přítomnost rotaviru Rotalex testem (mokrý forma) a Diarlex Rota testem (suchá forma). Výsledky jsou prezentovány v tabulce 3.

Tabulka 3 Výsledky		Rotalex latexový test (mokrý forma)	
		+	-
Diarlex Rota test (suchá forma)	+	60	0
	-	3	83

Citlivost 95,2% (86,7% až 99%)*

Specifická 100% (95,7% až 100%)*

Dohoda 97,9%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

Tři vzorky byly pozitivní testem Rotalex (mokrý forma) a negativní testem Diarlex (suchá forma). Dva z nich byly pozitivní elektronovou mikroskopií a jeden z nich byl EM negativní. Čtyři vzorky byly pozitivní jak s Rotalex testovací latexovou reagensí, tak s Rotalex kontrolní latexovou reagensí, takže nebyly vhodné pro testování tímto testem. Tři z těchto vzorků byly pozitivní elektronovou mikroskopií a také pozitivní testem Diarlex Rota. Jeden vzorek nebyl testován EM a byl negativní při testování Diarlex Rota testem.

Ze 150 vzorků stolice bylo 92 testováno také EM. Srovnání výsledků získaných testem Diarlex Rota a elektronovou mikroskopií jsou prezentovány v tabulce 4.

Tabulka 4 Výsledky		EM	
		+	-
Diarlex Rota	+	41	0
	-	4	47

Citlivost 91,1% (78,8% až 97,5%)*

Specifická 100% (95,7% až 100%)*

Dohoda 97,9%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

Studie 2. Na virologickém oddělení Helsinské university bylo testováno 34 vzorků mražené stolice a vytvořeno srovnání výsledků přítomnosti adenoviru získaných Adenolex testem (mokrý forma) a Diarlex Adeno testem (suchá forma). Výsledky jsou

prezentovány v tabulce 5. Srovnání výsledků mezi elektronovou mikroskopií (EM) a testem Diarlex Adeno u stejných vzorků je uveden v tabulce 6.

Výsledky		Adenolex latexový test (mokrý forma)	
		+	-
Diarlex Adeno test (suchá forma)	+	14	0
	-	0	20

Citlivost 100% (76,8% až 100%)*

Specificita 100% (83,2% až 100%)*

Dohoda 100%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

Výsledky		EM	
		+	-
Diarlex Adeno	+	14	0
	-	3	17

Citlivost 82,4% (56,6% až 96,2%)*

Specificita 100% (80,5% až 100%)*

Dohoda 91,2%

* 95% interval nejistoty měření je v závorkách

12. Interferující látky

Mekonium interferuje s měřením těmito testy, takže jej nelze jako vzorek použít.

12.1. Křížové reakce s viry

Nebyla nalezena žádná interference mezi protilátkami použitými v reagenčních Diarlex a následujícími viry^{6,7,8,14}.

Rotavirová reakce

Adenovirus

Astrovirus

Coronavirus

Norwalk virus

Calicivirus

Malé kulaté viry

Poliovirus

Adenovirová reakce

Echovirus 11

Coxsackievirus

Rotavirus

Poliovirus

12.2. Křížové reakce s bakteriemi

Nebyla nalezena žádná interference mezi protilátkami použitými v testu Diarlex a následujícími bakteriemi v koncentracích od 10^6 do 10^8 bakterií/ml¹⁴.

1. <i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	10^8
2. <i>Escherichia coli</i>	klinický kmen	10^8
3. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	10^8
4. <i>Enterobacter aerogenes</i>	ATCC 15038	10^8
5. <i>Candida albicans</i>	klinický kmen	10^6
6. <i>Proteus mirabilis</i>	klinický kmen	10^8
7. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	10^8
8. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	10^6
9. <i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 12598	10^6
10. <i>Enterococci</i>	klinický kmen	10^8
11. <i>Clostridium difficile</i>	ATCC 9689	10^8

13. Omezení metody

Testy Diarlex Rota-Adeno, Diarlex Rota a Diarlex Adeno jsou určeny jako pomůcka při diagnostice rotavirové a adenovirové infekce a je důležité, aby výsledky testu byly hodnoceny ve spojitosti s klinickými symptomy pacienta.

Přítomnost dalších patogenů není výsledky ani potvrzeno, ani vyloučeno. Pokud je podezření na suspektní bakteriální infekci, lékař může požadovat paralelní vyšetření na bakteriální agens.

Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce. Falešně negativní výsledky mohou být způsobeny nesprávným odběrem nebo pokud je vzorek odebrán později v průběhu onemocnění a ve stolici se nachází již málo virových částic^{1,9,10,11,12,13}.

14. Návaznost

Každá šarže reagensů je testována proti referenčnímu kmeni rotaviru získaném z Nebraska Calf Diarrhoea Virus, ATCC 452 a/nebo referenčnímu kmeni adenoviru získaném z lidského adenoviru, serotyp 3, ATCC VR-3.

15. Doporučení pro likvidaci

- Vybavení na více použití by mělo být po použití sterilizováno vhodným způsobem, nejlépe autoklávováno 1 hodinu při 121° C.
- Jednorázové pomůcky by měly být autoklávovány nebo spáleny.
- Ukápnutí potenciálně infekčních materiálů by mělo být okamžitě odstraněno buničitou vatou a kontaminované místo by mělo být potřeno standardním dezinfekčním prostředkem nebo 70 % alkoholem. Materiály použité pro čištění, včetně rukavic, je nutno likvidovat jako potenciálně nebezpečný biologický odpad.
- Reagencie obsahují 0,1 % azidu sodného jako konzervační činidlo. Azidy mohou reagovat s kovovými uzávěry za vzniku explozivních sloučenin. Z těchto důvodů materiály likvidujte s velkým množstvím vody.

Výrobce: Orion Diagnostica Oy
P.O. Box 83, FIN-02101 Espoo, Finland
Tel. +358-10-42 995; fax. +358-10-429 2794
www.oriondiagnostica.fi

Sídlo v ČR: Orion Diagnostica-organizační složka
Bělohorská 57, 169 00 Praha 6
Tel. 233 350 533
E-mail: orion@oriondiagnostica.cz
www.oriondiagnostica.cz

Originální příbalová informace: 38950-16

Datum poslední revize textu: 19.3.2006