



Rotalex

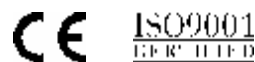
20 testů

100 testů

Kat. č. 67201

Kat. č. 67501

Návod k použití



1. Určený účel použití a indikace k použití

Rotalex je rychlý test založený na latexové aglutinaci. Test je vytvořen k detekci rotaviru ve stolici pacientů s akutní rotavirovou gastroenteritis a je vhodný k použití v každé laboratoři.

Pro diagnostické použití *in vitro*.

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. V současné době mezi dostupné imunologické metody patří latexová aglutinace, imunochromatografické testy a enzymoimunoanalýza.

3. Princip testu

V Rotalex latexová reagencie je složena z králičích protilátek proti rotaviru, které jsou navázány na bílém latexu. Jestliže vzorek obsahující rotavirové částice (antigen) se smísí s Rotalex latexovou reagencí, vytvoří se komplex antigen-protilátka zviditelněný aglutinací latexových částic. Každý kit také obsahuje kontrolní latexovou reagencii, která obsahuje nespecifické králičí protilátky vázané na bílé latexové částice. Nespecifické aglutininy vzorku stolice jsou tak odhaleny viditelnou aglutinací kontrolního latexu. V těchto případech neinterpretujte žádnou aglutinaci testovacích latexových reagencí.

4. Reagencie

Obsah kitu Rotalex	20 testů Kat.č.67201	100 testů Kat.č.67501
Rotalex latexová reagencie (lahvička č.1)	1 ml	5 x 1 ml
Rotalex kontrolní latexová reagencie (lahvička č.2)	1 ml	5 x 1 ml
Rotalex pozitivní kontrola (lahvička č.3)	0,5 ml	5 x 0,5 ml
Rotalex/Adenalex pufr (lahvička č.4)	90 ml	5 x 90 ml
Testovací karty	7 ks	37 ks
Míchací tyčinky	~30 ks	~120 ks
Návod k použití	1 ks	1 ks

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 reagensie 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 reagensií 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 reagensiemi.
- 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 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 reagensie po indikované expirační době.
- Nemíchejte reagensie z kitů různých šarží.
- Nepoužívejte zředěné vzorky, které nebyly připraveny podle těchto návodu. Používejte pouze vzorky stolice.
- Nápadná turbidita jakékoli z reagensií může být známka kontaminace reagensie. Nepoužívejte kit, pokud kontroly nepracují, jak očekáváte.

7. Skladování a expirační doba

Skladujte při teplotě 2...8° C. Kit před použitím vytemperujte na laboratorní teplotu (18...25°C). Expirační doba je vtištěna na balení. Nepoužívejte reagensie po expiračním datu.

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/Adenalex anebo filtrační odběrové lahvičky (Faecal Specimen Filtration Vials).

Mekonium nesmí být použito jako vzorek.

Doporučujeme vzorky stolice ředit pufrům a okamžitě analyzovat.

Je-li to nezbytné, lze stolici před analýzou uchovávat několik dní při 2...8°C. Neředěné 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 Rotalex 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.

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

8.2. Centrifugační metoda

1. Nařed'te 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 soupravy vytemperujte ředěný vzorek a testovací kit na laboratorní teplotu (18...25°C).

9.1. Pracovní postup pro test

1. Ze soupravy Rotalex vyjměte testovací kartu.

2. A) Filtrační metoda

Důkladně promíchejte obsah filtrační nádoby. Odstraňte klobouček ze špičky víčka (Obr./Fig.3). Lahvičku obraťte dnem vzhůru a odkápněte prvních 5 kapek mimo test (Obr./Fig.4).

Kapku roztoku vzorku aplikujte do každého ze dvou sousedních kruhů na kartě (Obr./Fig.5).

B) Centrifugační metoda

Jako vzorek použijte čistý supernatant. Kapku supernatantu o objemu 50 μ l aplikujte do každého ze dvou sousedních kruhů na kartě.

3. Před použitím pečlivě promíchejte Rotalex latexovou reagensii (lahvička č.1) do homogenní suspenze buď na vibračním míchadle po dobu asi 10s, nebo důkladným mícháním lahvičky. Zabraňte tvorbě pěny. Lahvičku obraťte dnem vzhůru a kápněte jednu volně padající kapku Rotalex latexové reagensie do levého kruhu do blízkosti kapky předředeného vzorku (z filtrační lahvičky nebo supernatant). Kapky zatím nesmíchávejte (Obr./Fig.6).
4. Lahvičku s Rotalex kontrolní latexovou reagensií (lahvička 2) promíchejte stejným způsobem jako lahvičku s Rotalex latexovou reagensií. Lahvičku obraťte dnem vzhůru a kápněte jednu volně padající kapku Rotalex kontrolní latexové reagensie do pravého kruhu do blízkosti kapky předředeného vzorku. Kapky zatím nesmíchávejte (Obr./Fig.7).
Tento kruh bude sloužit jako Vaše negativní kontrola pro latexovou aglutinaci. V tomto kruhu by se žádná aglutinace neměla objevit.
5. Pečlivě promíchejte latex 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.8-9).
6. Testovací kartu naklánějte z jedné strany na druhou. Během 2 minut se objeví aglutinace (Obr./Fig.10).

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 reagensií a v kruhu s kontrolní latexovou reagensií 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 reagensií, ani v kruhu s kontrolní latexovou reagensií neobjeví během 2 minut aglutinace.

Neinterpretovatelný výsledek

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

10. Kontrola kvality

Funkční způsobilost testu Rotalex můžete zkontrolovat tak, že místo vzorku použijete jednu kapku Rotalex Positive Control (pozitivní kontrola), která obsahuje inaktivované virové antigeny.

11. Analytické parametry měření

Test Rotalex byl srovnáván s přímou elektronovou mikroskopií (EM) a s komerční enzymoimunoanalýzou k detekci rotavirové infekce ve stolici dětí a novorozenců. Pro vzorky odebrané v počátečních stádiích od 265 dětí mladších 3 let, které trpěly průjmem, měl test Rotalex citlivost 81,7% a specifickou 99,5% ve srovnání s EM. Pozitivní předpovědní hodnota byla 98,0% a negativní předpovědní hodnota 94,9%⁷.

	Pozitivní testem Rotalex	Negativní testem Rotalex
EM – pozitivní	49	11
EM – negativní	1	204

Když se testovaly stolice pacientů s rotavirovou enteritidou každý den, citlivost testu Rotalex se měnila v závislosti na době od počátku symptomů, kdy byl proveden odběr. Pokud se vzorek odebral v době 1-4 dny po nástupu symptomů, byla citlivost 100%. Pokud se odebral v době 5-7 dní po nástupu symptomů, citlivost byla 96%. Pokud v době 8-18 dní od nástupu symptomů, byla citlivost 54%. Pokud se testovaly EM-negativní stolice asymptomatických novorozeňat, falešná pozitivita byla pouze 3,3% (3/214)⁷.

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 testu Rotalex a následujícími viry^{2,3,4,5}.

Rotavirová reakce

Adenovirus	Calicivirus
Astrovirus	Malé kulaté viry
Coronavirus	Poliovirus
Norwalk virus	

12.2. Křížové reakce s bakteriemi

Nebyla nalezena žádná interference mezi protilátkami použitými v testu Rotalex a následujícími bakteriemi v koncentracích od 10^6 do 10^8 bakterií/ml².

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

Test Rotalex je určen jako pomůcka při diagnostice rotavirové virové 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 testem Rotalex 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^{1,6,7,8,9,10}.

14. Návaznost

Každá šarže reagensů je testována proti referenčnímu kmeni rotaviru získaném z Nebraska Calf Diarrhoea Virus, ATCC 452.

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. Azid sodný uvolňuje toxický plyn, pokud je v kontaktu s kyselinami. Azidy mohou reagovat s kovovými uzávěry za vzniku explozivních sloučenin. Z těchto důvodů materiály likvidujte s velkým množstvím vody.

Vysvětlení symbolů použitých na štítcích

Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro



Katalogové číslo



Číslo šarže



Teplotní rozmezí: skladujte při teplotě 2...8°C



Použitelné do



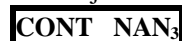
Viz návod k použití



Obsah



Obsahuje azid sodný



37893-24

Rotalex latexová reagencie (lahvička č. 1)

REAG ROTA 1

Rotalex kontrolní latexová reagencie (lahvička č.2)

REAG CONTROL 2

Rotalex pozitivní kontrola (lahvička č.3)

CONTROL + 3

Pufr (lahvička č.4)

BUF 4

Původ králíčů

ORIG RAB

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: 37893-24
Datum poslední revize textu: 26.2.2005