

Rapid Strip ROTA-ADENO

Rapid Immunoassay for the Detection of
of Rotavirus and Adenovirus Antigens in Stool Specimens

REF



IVD

751120

For in vitro diagnostic use only

ENGLISH p. 2

Rapid Immunochromatographic assay for the Detection of Rotavirus and
Adenovirus Antigens in Stool Specimens

FRANÇAIS p. 6

Test immuno-chromatographique rapide pour la détection des antigènes de
Rotavirus et Adénovirus dans les échantillons de selles

ITALIANO p.11

Test rapido immunocromatografico per il rilevamento di antigeni di Rotavirus
ed Adenovirus in campioni fecali

ESPAÑOL p. 15

Inmunoensayo Rápido para la Detección de Antígenos
de Rotavirus y Adenovirus en Muestras de Heces

DEUTSCH p. 19

Immunchromatographischer Schnelltest für den Nachweis von Rotavirus
und Adenovirus Antigen in Stuhlproben

meridian BIOSCIENCE®
LIFE DISCOVERED. LIFE DIAGNOSED.

ENGLISH

Rapid Strip Rota-Adeno

REF 751120 – 20 tests

A Rapid Immunochromatographic assay for the Detection of Rotavirus and Adenovirus Antigens in Stool Specimens

INTENDED USE

The Rapid Strip Rota -Adeno is an *in vitro* qualitative procedure for the detection of Rotavirus and Adenovirus antigens in human stool.

EXPLANATION

Rotavirus is the primary causative agent of acute gastro-enteritis, especially in children less than 2 years old. Its discovery in 1973 and its association with infantile gastro-enteritis represented a very important advance in the study of gastro-enteritis not caused by acute bacterial infection. Rotavirus is transmitted by oral-faecal contact with an incubation period of 1-3 days. Although sample collections taken within the second and fifth day of the illness are ideal for antigen detection, the rotavirus may still be found whilst diarrhoea continues.

Because rotavirus is extremely difficult to culture, it is unusual to use isolation of the virus in diagnosing an infection. Instead, a variety of techniques have been developed to direct detect rotavirus in faeces. The Rapid Strip Rota-Adeno provides a simple, direct detection assay of rotavirus in faeces, which is highly sensitive, specific and rapid.

Rotavirus has been described as the most common causing agent of diarrhoea in the world. It has been estimated that in the developing countries the infection by rotavirus is causing one million deaths per annum. It is also responsible for 20 to 25% of the deaths by diarrhoea, and it is causing 6% of the deaths in children under 5 years (Cook et al, Bull WHO, 1990;68:171-7).

The Adenovirus is the second most common cause of viral gastro-enteritis in children (10-15%). This virus may also cause respiratory diseases and, depending on the serotype, also diarrhoea, conjunctivitis, cystitis, etc. At least 47 serotypes of adenovirus have been described, all sharing a common hexon antigen. Serotypes 40 and 41 are the ones associated with gastro-enteritis, whose main symptom is diarrhoea that may last between 9 and 12 days associated with fever and vomit.

The diagnosis of these two viruses is difficult by culture, therefore the detection of viral antigen particles in faeces samples is becoming a common diagnostic technique. The **Rapid Strip Rota-Adeno** is a rapid 5-minute immunoassay, based on a lateral flow chromatography technique that detects *Rota* and *Adenovirus* antigens present in human stool.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The rapid strip Rota-Adeno employs a combination of 1) pink-red latex-conjugated monoclonal antibodies against antigen VP6 of group A of rotavirus, and solid-phase specific rotavirus antibodies. 2) blue latex-conjugated monoclonal antibodies against the adenovirus hexon antigen, (which is present in all the human subtypes of adenovirus) and solid-phase specific adenovirus antibodies.

In this test the specimen is first treated with a sample diluent to extract rotavirus and adenovirus antigens from the faeces. Following extraction, the only step required is to add the extract and the strip in a tube.

As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured particles. Different coloured lines will be visible, depending upon the virus content of the sample. These lines, after 5 minutes of incubation at room temperature, are used to interpret the result.

MATERIALS PROVIDED

The kit contains all the necessary material to perform 20 tests:

- Reaction strips (20) individually foil pouched, containing immobilized anti-*Rota* and anti-*Adeno* antibody (test zone).
- One Sample diluent Bottle (30 ml)

MATERIALS NOT PROVIDED:

1. Disposable latex gloves, that should be used during the handling of the faecal samples as they are considered potential hazard material.
2. Swabs/applicators for stool sample collection
3. Vortex for suspension of the stool specimen in the extraction buffer.
4. Test tubes for the extraction
5. Transfer pipettes
6. Timer

PRECAUTIONS

1. All the reagents are for "In Vitro" diagnostic use only.
2. Do not use the test beyond its expiry date.
3. Do not interchange reagents from different kit lot numbers.
4. Allow kit components and specimens to reach the room temperature before use, as cold reagents and/or specimens may decrease assay performances. 20-30 minutes are recommended.
5. Do not use the test if any coloured line can be seen in the test zone before performing the test.
6. The test will not perform properly if the amount of sample is less or more than required.
7. Stool must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to insure a representative sample prior to sampling.
8. All the specimens should be handled as if they could transmit infectious agents.
9. Dispose of all used materials in a container suitable for biohazardous waste.

The sample diluent contains Sodium Azide (0,095 %) as preservative. Avoid contact with the skin.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiry date is printed on the pouch of each reaction strip.

The product can be stored at any temperature between 2 and 30° C. Do not freeze.

SPECIMEN HANDLING

Stool samples must be collected as soon as the symptoms appear. Viral particles decrease in number after 8 days, making the diagnosis more difficult.

The specimen should be received in an airtight transport container and stored at 2°-8°C until tested. The samples can be stored in the refrigerator for 2 days. For longer storage they must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample should be totally thawed, and brought to room temperature and homogenised before testing.

NOTE: Stool in transport media, swabs, or preservatives are inappropriate for testing

PROCEDURE

1. Transfer 1.0 ml of sample diluent in a test tube or vial
2. Add a sample portion of approximately 5-6 mm size (30-50mg), with a swab, a wooden applicator, or a bacteriology loop. For liquid or semi-solid stools add 100 microliters of stool using an appropriate pipette. Shake gently to resuspend it into the buffer.
3. Vortex for 15 seconds
4. Wait at least 3 minutes until the solid particles settle or centrifuge for 1 minute at 700 xg and transfer with a pipette 500 microliters of supernatant to another test tube,
5. Dip the reaction strip in the second test tube with the arrow pointing to the bottom.
IMPORTANT: the liquid must not reach the blue area above the arrowheads. If needed, use a larger tube or reduce the amount of sample.
6. Incubate the test at 19-27 C for 10 minutes and then read the results as described under INTERPRETATION OF RESULTS section below. Any line that may appear after 10 minutes does not have diagnostic value.

Note: the strip can also be introduced into the first tube or vial, provided it is large enough to avoid the liquid to reach the blue area above the arrowheads. However, in rare cases, when using a too concentrated diluted specimen, the absorption might be difficult. Alternatively, the strip can be dipped for 10 seconds in the first tube, avoiding exceeding the arrowheads, and then transferred to the bench top for the incubation.

INTERPRETATION OF RESULTS

Negative test result: only one **GREEN** band (Control Line) appears across the white central area of the reaction strip. *Rota* and *Adeno* antigens are absent or below the level of detection.

Positive test result: In addition to the **GREEN** band (Control Line), a distinguishable **PINK-RED** band (indicating that there are detectable *Rotavirus* antigens in the specimen) and/or a distinguishable **BLUE** band (indicating that there are detectable *Adenovirus* antigens in the specimen) also appears across the white central zone of the reaction strip.

The intensity of the band will be variable depending on the antigen concentration in the specimen. Any pink-red or blue line, even very weak, must be considered as a positive result. Any line or colour appearing after 10 minutes has no diagnostic value.

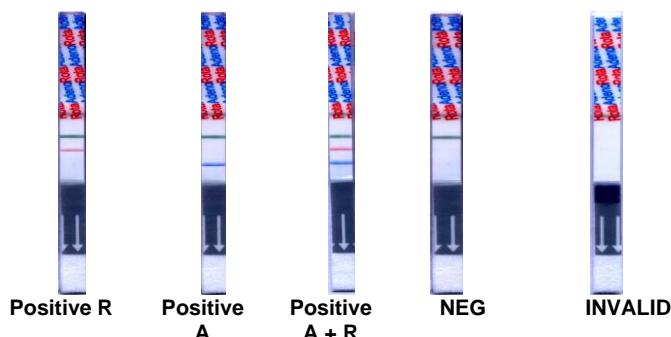
Invalid test result: The result window remains white, there are no lines visible or there is one blue line only or one red line only. The specimen should be re-tested using a new reaction device.

Interpretation code for the images on the strip.

R: Rotavirus

A: Adenovirus

N: Negative



Final diagnosis should not be based exclusively on a single test result. It should be based on the consistency of test results with other applicable data and the clinical symptoms.

QUALITY CONTROL

If no Control Line band appears, the test is invalid, since improper test procedure was carried out or deterioration of the reagents has occurred.

WARNING: The inclusion of a control with known results is recommended to ensure that the data obtained are correct.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The test should be used only for the detection of rotavirus or adenovirus antigen in faecal samples.
2. The test is qualitative, and no quantitative interpretation should be made with respect to the intensity of the positive line, when reporting the result.
3. More than 200 samples were evaluated to assure the correct performance of the test. The correlation of the results with other techniques (ELISA) was excellent. However, interferences in the performance of the tests should not be excluded.
4. An excess of faecal sample may cause to appear **brown lines** instead of red and blue lines. These brown lines have no diagnostic value. In this case repeat the test with a smaller amount of sample or dilute the extract already made.
5. No cross-reactions with other viruses or substances were observed during the evaluation of the test. A negative result does not totally exclude a possible rotavirus or adenovirus infection. The significance of the results must be evaluated in relation to the patient's clinical symptoms.
6. The analysis of some samples could show lines with indefinite colour, caused mostly by negative samples. Therefore, when lines with indefinite coloration appear, the test should be repeated. If the same result is obtained, it is suggested to use another analysis method.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

ANALYTICAL SENSITIVITY

The lower detection limit for the Rota-Adeno strip is 31 ng/mL for Rotavirus and Adenovirus antigens.

DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

ASSAY 1

A CE-marked ELISA product is used as reference product. Rapid Strip Rota-Adeno is evaluated against an ELISA for the detection of Rotavirus antigens and against a second ELISA for the detection of Adenovirus antigens.

The results obtained were:

ROTAVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	12	0
	-	2	88

Concordance percentage: $100\%[(12+88)/102] = 98,04\%$.

Positive concordance: $100\%[12 / (12+0)] = >99,9\%$.

Negative concordance: $100\%[88 / (88+2)] = 97,8\%$.

ADENOVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	6	0
	-	0	96

Concordance percentage: $100\%[(6+96)/102] = >99,9\%$.

Sensitivity Concordance estimate: $100\%[6 / (6+0)] = >99,9\%$.

Specificity Concordance estimate: $100\%[96 / (0+96)] = >99,9\%$.

ASSAY 2

A second reference result is used, two ELISAs for the detection of each antigen as above, approved in the Japanese market, to corroborate the results obtained.

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	80	1
	-	26	307

Concordance percentage: $100\%[(80+307)/414] = 93,5\%$.

Sensitivity Concordance estimate: $100\%[80 / (80+1)] = 98,8\%$.

Specificity Concordance estimate: $100\%[307 / (307+1)] = 92,2\%$.

ADENOVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	40	1
	-	13	360

Concordance percentage: $100\%[(40+360)/414] = 96,6\%$.

Sensitivity Concordance estimate: $100\%[40 / (40+1)] = 97,6\%$.

Specificity Concordance estimate: $100\%[360 / (360+13)] = 96,5\%$.

INTRA-ASSAY PRECISION - REPETEABILITY

Three duplicates of each concentration from the sensitivity curve are tested using three different lots and the same results are obtained.

PRECISION – REPRODUCIBILITY

INTER-DAY PRECISION

Using 1 lot of the product, ten duplicates of the sensitivity curve are performed throughout ten consecutive days. Only a difference of a half dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

INTER-LAB PRECISION

Three different laboratories/operators test those same samples, presenting high precision and concordance. Only a difference of a half dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

INTER-LOT PRECISION

Using 3 different lots of the product, a sensitivity curve is constructed in duplicate. The analysis is performed by the same person in the same day. Only a difference of a half dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

HOOK EFFECT

The amount tested was 2,000 ng/ml Rotavirus + 2,000 ng/ml Adenovirus. The limit of the test is 31 ng/ml Rotavirus + 31 ng/ml Adenovirus. This amount is 65 times the limit of the test. One lot is tested in duplicate. No hook effect has been observed at a concentration equivalent to 65 times the limit of the test.

INTERFERING SUBSTANCES

The substances listed in the table, at the indicated concentration, didn't interfere with the results. Three lots were used for the study.

Bilirubin F: 0.9 – 1.1 mg/ml	Atropine (40 mg/dl)
Bilirubin C: 0.9 – 1.1 mg/ml	Caffeine (40 ng/dl)
Hemoglobin: 22 – 27 mg/ml	Gentisic acid (40 mg/dl)
Acetaminophen (20 mg/dl)	Glucose (2,000 mg/dl)
Acetylsalicylic acid (20 mg/dl).	Urea (4,000 mg/dl)
Ampicillin (40 mg/dl).	Uric acid (10 mg/dl)
Ascorbic acid (100 mg/dl)	

INTERFERING MICROORGANISMS

The microorganisms listed, at the indicated concentration, did not interfere with the results.

Bacteria. CONCENTRATION (McF:5(1x10E8/ml)

<i>E.coli</i>	Group G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Group B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.milleri</i>
Group C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Subtype	Final concentration (TCID ₅₀ /ml)
Influenza type A	H1N1	1.4×10 ⁶
Influenza type A	H3N2	3.0×10 ⁶
Influenza type B	Victoria	1.6×10 ⁶
Influenza type B	Yamagata	1.5×10 ⁷

Virus-2

Virus	Subtype	Final concentration (TCID ₅₀ /ml)
Echovirus	6	7.2×10 ⁵
Poliovirus	2	2.2×10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2×10 ⁷

For Support, please contact Meridian Bioscience Technical Support at +390331433636 – email: TS@meridianbioscience.com or call your Country Distributor.

Rapid Strip Rota-Adeno

REF 751120 – 20 tests

Test immuno-chromatographique rapide pour la détection des antigènes de Rotavirus et Adénovirus dans les échantillons de selles

BUT DE LA METHODE

Le test **Rapid Strip Rota-Adeno** est une procédure qualitative *in vitro* rapide pour la détection des antigènes de Rotavirus et d'Adénovirus dans les selles humaines.

INTRODUCTION

Le rotavirus est le principal agent responsable de gastro-entérites aiguës, en particulier chez les enfants de moins de 2 ans. La découverte du virus en 1973 et de son rôle dans les gastro-entérites infantiles représente une avancée très importante dans l'étude des gastro-entérites non dues à une infection bactérienne aiguë. Le rotavirus est transmis par contact oro-faecal, et présente une période d'incubation de 1-3 jours. Les échantillons prélevés entre le second et le cinquième jour de la maladie donnent les meilleurs résultats pour la détection des antigènes, mais le rotavirus peut également être détecté pendant toute la durée des diarrhées.

La culture du rotavirus est extrêmement difficile à réaliser, il est donc inhabituel d'isoler le virus pour diagnostiquer une infection. Une variété de techniques a été développée pour détecter le rotavirus directement dans les selles.

Le rotavirus a été décrit comme l'agent le plus fréquemment responsable de diarrhées dans le monde. Dans les pays développés, il est estimé que l'infection à rotavirus provoque un million de décès par an. Cette infection est également responsable de 20 à 25% des décès dus aux diarrhées, et provoque 6% des décès des enfants âgés de moins de 5 ans (Cook *et al.*, Bull WHO, 1990, 68:171-7).

Le test **Rapid Strip Rota-Adeno** est un test simple de détection directe du rotavirus dans les selles, qui est hautement sensible, spécifique, et rapide.

L'adénovirus est la seconde cause la plus commune de gastro-entérites virales chez les enfants (10-15%). Ce virus peut également provoquer des maladies respiratoires, et, en fonction du sérotype, des diarrhées, des conjonctivites, des cystites, etc. 47 sérotypes d'adénovirus ont été décrits, qui possèdent tous un antigène de groupe commun (hexon). Les sérotypes 40 et 41 sont les sérotypes associés aux gastro-entérites, le symptôme principal étant une diarrhée qui peut durer entre 9 et 12 jours, associée à une élévation de température et des vomissements.

Le diagnostic de ces deux virus est difficile à réaliser par culture. La détection de particules d'antigènes viraux dans les échantillons de selles est donc devenue une technique de diagnostic habituelle. Le test **Rapid Strip Rota-Adeno** est un test rapide (5 minutes), basé sur la technique de chromatographie en flux latéral, qui détecte les antigènes de *Rotavirus* et d'*Adénovirus* présents dans les échantillons de selles humaines.

PRINCIPE BIOLOGIQUE

Le test **Rapid Strip Rota-Adeno** utilise une combinaison :

1) d'anticorps monoclonaux conjugués à des particules de latex roses-rouges, dirigés contre l'antigène VP6 des rotavirus du groupe A, et des anticorps spécifiques du rotavirus fixés sur une phase solide, 2) d'anticorps monoclonaux conjugués à des particules de latex bleues, dirigés contre l'antigène hexon des adénovirus (présent dans tous les sous-types d'adénovirus humains), et des anticorps spécifiques de l'adénovirus fixés sur une phase solide.

Dans ce test, l'échantillon est d'abord traité avec un tampon qui permet d'extraire les antigènes de rotavirus et d'adénovirus des selles. Après l'extraction, la seule étape requise consiste à déposer l'extrait puis la bandelette dans un tube de test.

Lorsque l'échantillon migre à travers la membrane de test, les particules colorées migrent également. Dans le cas d'un résultat positif, les anticorps spécifiques présents sur la membrane capturent les particules colorées. Différentes lignes de couleur seront visibles, en fonction du virus contenu dans l'échantillon. Ces lignes sont utilisées pour interpréter les résultats, après 5 minutes d'incubation à température ambiante.

MATERIEL FOURNI

Le coffret contient le matériel nécessaire à la réalisation de 20 tests :

- Bandelettes de test (20) : emballées individuellement, contiennent des anticorps immobilisés anti-*Rotavirus* et anti-*Adénovirus* (zone de test).
- Flacon de diluant échantillon (1 flacon de 30 ml).

MATERIEL NON FOURNI

1. Gants en latex à usage unique, dont l'utilisation est recommandée pour la manipulation d'échantillons fécaux considérés comme potentiellement infectieux.
2. Ecouvillons / applicateurs pour le prélèvement d'échantillons de selles.
3. Vortex pour assurer une meilleure suspension des selles dans le diluant échantillon.
4. Tubes de test pour l'extraction des échantillons.
5. Pipettes de transfert.
6. Minuteur.

PRECAUTIONS D'EMPLOI

1. Tous les réactifs du kit **Rapid Strip Rota-Adeno** sont destinés à un usage *in vitro* seulement.
2. Ne pas utiliser le test après la date d'expiration.
3. Ne pas mélanger des réactifs provenant de coffrets de différents numéros de lot.
4. Tous les réactifs et les échantillons de selles doivent être ramenés à température ambiante avant utilisation. Des réactifs et/ou des échantillons froids peuvent réduire la sensibilité du test. Une mise à température ambiante de 20 à 30 minutes est recommandée pour atteindre la température adéquate avant de procéder au test.
5. Ne pas utiliser la bandelette si une ligne colorée est visible dans la zone de test avant la réalisation du test, quelle que soit la couleur de cette ligne.
6. Le test ne fonctionnera pas correctement si la quantité d'échantillon prélevée est trop importante ou trop faible.
7. Les selles doivent être mélangées soigneusement (quelle que soit leur consistance) pour obtenir un échantillon représentatif avant prélèvement.
8. Les échantillons de selles peuvent contenir des agents infectieux, et doivent être manipulés avec les précautions habituelles.
9. Eliminer tout le matériel utilisé dans des conteneurs adaptés à l'élimination des déchets contaminés.
10. **Le diluant échantillon contient de l'azide de sodium (0,095 %) comme conservateur. Eviter tout contact avec la peau.**

CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

La date de péremption est indiquée sur le sachet de chaque bandelette de test.

Le coffret doit être conservé entre 2°C et 30°C. Dans ces conditions, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. **NE PAS CONGELER.**

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de selles doivent être recueillis dès l'apparition des symptômes. Le nombre de particules virales diminue en effet après 8 jours, ce qui rend le diagnostic plus difficile.

Les échantillons doivent être reçus dans un récipient de transport hermétique, et stockés à 2-8°C jusqu'à leur utilisation. Ils doivent être testés le plus tôt possible, mais peuvent être conservés jusqu'à 2 jours à 2-8°C avant le test. Pour une conservation plus longue, les échantillons doivent être congelés immédiatement après réception et stockés à -20° jusqu'au moment du test. A ce moment-là, les échantillons seront décongelés complètement, portés à température ambiante, et homogénéisés avant le test.

Remarque : les selles conservées dans un milieu de transport, obtenues par prélèvement sur écouvillon, ou conservées dans des fixateurs ne sont pas utilisables dans ce test.

PROCEDURE

1. Déposer 1,0 ml de diluant échantillon dans un tube ou un flacon de test.
2. Ajouter une noisette de selles de 5-6 mm de diamètre (30-50 mg) dans le tube, à l'aide d'un écouvillon, d'un applicateur en bois ou d'une anse de bactériologie. Pour les selles liquides et semi-solides, ajouter dans le tube 100 microlitres de selles à l'aide d'une pipette appropriée. Bien émulsionner les selles pour les suspendre dans le tampon.
3. Mélanger au vortex pendant 15 secondes.
4. Attendre au minimum 3 minutes pour que les particules solides sédimentent au fond du tube, ou centrifuger 1 minute à 700g, puis transférer 500 microlitres de surnageant dans un autre tube de test, à l'aide d'une pipette.
5. Immerger la bandelette de test dans le second tube de test, avec la flèche dirigée vers le bas.
IMPORTANT : le liquide ne doit pas atteindre la zone colorée en bleu localisée sous la flèche. Si nécessaire, utiliser un tube de test plus large, ou réduire le volume de l'échantillon.
6. Incuber le test entre 19 et 27°C pendant 10 minutes, puis lire les résultats comme décrit dans la section INTERPRETATION DES RESULTATS ci-dessous. Les lignes qui apparaissent après 10 minutes n'ont aucune valeur diagnostique.

Remarque : la bandelette peut également être plongée dans le premier tube ou flacon de test, à condition que ce tube soit suffisamment large pour éviter que le liquide atteigne la zone colorée en bleu localisée sous la flèche. Cependant, dans certains cas, l'absorption peut se révéler difficile lorsque l'échantillon est trop concentré.

De manière alternative, la bandelette peut être plongée pendant 10 secondes dans le premier tube de test, en évitant que le liquide dépasse la pointe de la flèche, puis déposée sur la paillasse pendant l'incubation.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultat de test négatif : une seule ligne **VERTE** (ligne de contrôle) est détectable dans la zone centrale blanche de la bandelette de test. Un résultat négatif indique l'absence d'antigènes de *Rotavirus* et d'*Adénovirus*, ou un taux inférieur à la limite de détection.

Résultat de test positif : en plus de la ligne **VERTE** (ligne de contrôle), une ligne **ROSE-ROUGE** (indiquant la présence d'antigènes de *Rotavirus* détectables dans l'échantillon) et/ou une ligne **BLEUE** (indiquant la présence d'antigènes d'*Adénovirus* détectables dans l'échantillon) apparaissent également dans la zone blanche centrale de la bandelette de test.

L'intensité de la ligne rose-rouge et/ou de la ligne bleue obtenue(s) est variable, et dépend de la concentration d'antigènes dans l'échantillon. Toute ligne rose-rouge et/ou bleue visible, même très faiblement, doit être considérée comme un résultat positif. Toute ligne ou couleur observée au-delà des 10 minutes d'incubation n'a pas de valeur diagnostique.

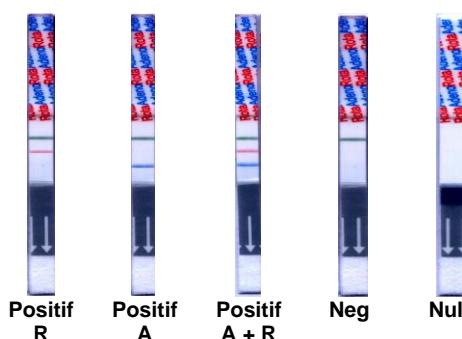
Résultat de test invalide : la fenêtre de résultat demeure blanche, il n'y a aucune ligne visible, ou on constate l'apparition d'une bande rouge ou d'une bande bleue sans apparition de bande de contrôle. L'échantillon doit être testé de nouveau, en utilisant une nouvelle bandelette de test.

Code d'interprétation des images des bandelettes.

R : rotavirus

A : adénovirus

N : négatif



Le diagnostic final ne devra pas être basé uniquement sur le résultat d'un test. Il devra être fondé sur la corrélation des résultats du test avec d'autres données appropriées et avec la symptomatologie clinique.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Si la bande de Contrôle n'apparaît pas, le test doit être considéré comme invalide. Dans ce cas, une procédure de test incorrecte a été réalisée, ou l'un des réactifs est détérioré.

LIMITES DU TEST

1. Le test **Rapid Strip Rota-Adeno** doit être utilisé uniquement pour la détection des antigènes de rotavirus ou d'adénovirus dans les échantillons fécaux.
2. Ce test est une technique qualitative. Aucune interprétation quantitative, basée sur l'intensité de la ligne de test, ne peut être réalisée en reportant les résultats.
3. Plus de 200 échantillons ont été évalués pour s'assurer des performances du test **Rapid Strip Rota-Adeno**. Les valeurs de corrélation obtenues avec d'autres techniques (Elisa) sont excellentes. Cependant, des interférences dans les performances du test ne peuvent pas être exclues.
4. Un excès d'échantillon de selles peut provoquer l'apparition de bandes de résultat de **couleur brune**, au lieu de bandes de résultat rouges et bleues. Ces lignes brunes n'ont pas de valeur diagnostique. Dans ce cas, le test doit être répété en utilisant une quantité plus faible d'échantillon, ou en diluant l'extrait précédemment réalisé.
5. Aucune réaction croisée avec d'autres virus ou d'autres substances n'a été observée durant l'évaluation de ce test. Un résultat négatif n'exclut pas totalement la possibilité d'une infection à rotavirus ou à adénovirus. La signification des résultats doit être interprétée en fonction des symptômes cliniques du patient.
6. L'analyse de certains échantillons peut donner des lignes de couleur indéfinie, qui sont causées la plupart du temps par des échantillons négatifs. En cas d'obtention de ligne de couleur indéfinie, le test doit être répété. Si un résultat similaire est obtenu, il est conseillé d'utiliser une autre méthode d'analyse.

PERFORMANCES DU TEST

SENSIBILITE ANALYTIQUE

La limite inférieure de détection pour la bandelette Rota-Adeno est de 31 ng/mL pour les antigènes du Rotavirus et de l'Adénovirus.

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ EN MATIÈRE DE DIAGNOSTIC

TEST 1

Nous avons utilisé comme test de référence un produit de la technique ELISA portant le marquage CE. Nous avons évalué le Rapid strip Rota-Adeno par rapport à un ELISA pour la détection d'antigènes de rotavirus et par rapport à un autre ELISA pour la détection d'antigènes d'adénovirus.

Les résultats ont été les suivants :

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	12	0
	-	2	88

Pourcentage de concordance : $100\%[(12+88)/102] = 98,04\%$.

Concordance de sensibilité estimée : $100\%[12 / (12+0)] = >99,9\%$.

Concordance de spécificité estimée : $100\%[88 / (88+2)] = 97,8\%$.

ADÉNOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	6	0
	-	0	96

Pourcentage de concordance : $100\%[(6+96)/102] = >99,9\%$.

Concordance de sensibilité estimée : $100\%[6 / (6+0)] = >99,9\%$.

Concordance de spécificité estimée : $100\%[96 / (0+96)] = >99,9\%$.

TEST 2

Un deuxième test de référence a été utilisé, deux ELISAS pour la détection de chacun des antigènes comme dans le cas précédent, approuvés sur le marché japonais, pour corroborer les résultats obtenus.

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	80	1
	-	26	307

Pourcentage de concordance : $100\%[(80+307)/414] = 93,5\%$.

Concordance de sensibilité estimée : $100\%[80 / (80+1)] = 98,8\%$.

Concordance de spécificité estimée : $100\%[307 / (307+26)] = 92,2\%$

ADÉNOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	40	1
	-	13	360

Pourcentage de concordance : $100\%[(40+360)/414] = 96,6\%$.

Concordance de sensibilité estimée : $100\%[40 / (40+1)] = 97,6\%$.

Concordance de spécificité estimée : $100\%[360 / (360+13)] = 96,5\%$

PRÉCISION INTRA-TESTS - RÉPÉTABILITÉ

Nous avons testé trois échantillons (triplicata) de chaque concentration de la courbe de sensibilité avec trois lots différents et nous avons obtenu les mêmes résultats.

REPRODUCTIBILITÉ

PRÉCISION INTER-JOURS

Avec 1 lot de produit, nous avons testé dix échantillons de la courbe de sensibilité au cours de dix journées consécutives. Nous n'avons apprécié qu'une différence d'une demi-dilution, considérée comme acceptable et tolérable pour le test réalisé.

PRÉCISION INTER-LABORATOIRES

Trois techniciens de laboratoire différents ont testé ces mêmes échantillons en maintenant des niveaux de précision et de correspondance élevés. Nous n'avons apprécié qu'une différence d'une demi-dilution, considérée comme acceptable et tolérable pour le test réalisé.

PRÉCISION INTER-LOTS

Avec 3 lots de produit, nous avons réalisé une courbe de sensibilité en parallèle. L'analyse a été réalisée par une seule personne au cours de la même journée. Nous n'avons apprécié qu'une différence d'une demi-dilution, considérée comme acceptable et tolérable pour le test réalisé.

EFFET CROCHET

La quantité testée a été de 2 000 ng/ml Rota + 2 000 ng/ml Adéno. La limite du test est 31 ng/ml Rota + 31 ng/ml Adéno. Cette quantité est 65 fois supérieure à la limite du test. Nous avons testé un lot en double. Nous n'avons pas observé d'effet crochet avec une concentration 65 fois supérieure à la limite du test.

SUBSTANCES INTERFÉRENTES

Les substances présentées dans le tableau, à la concentration indiquée, n'ont donné lieu à aucune interférence dans le résultat. Nous avons utilisé trois lots pour la réalisation de l'étude.

Bilirubine F: 0.9 – 1.1 mg/ml	Atropine (40 mg/dl)
Bilirubine C: 0.9 – 1.1 mg/ml	Caféine (40 ng/dl)
Hémoglobine: 22 – 27 mg/ml	Acide gentisique (40 mg/dl)
Acétaminophène (20 mg/dl)	Glucose (2,000 mg/dl)
Acide acétylsalicylique (20 mg/dl).	Urée (4,000 mg/dl)
Ampicilline (40 mg/dl).	Acide urique (10 mg/dl)
Acide ascorbique (100 mg/dl)	

MICROORGANISMES INTERFÉRENTS

Les microorganismes indiqués, à la concentration spécifiée, n'ont donné lieu à aucune interférence dans le résultat.

Bactéries. CONCENTRATION (McF:5(1x10E8/ml)

<i>E.coli</i>	Groupe G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Groupe B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.milleri</i>
Groupe C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Viruse	Sous-type	Concentration finale (TCID ₅₀ /mL)
Influenza type A	H1N1	1,4×10 ⁶
Influenza type A	H3N2	3,0×10 ⁶
Influenza type B	Victoria	1,6×10 ⁶
Influenza type B	Yamagata	1,5×10 ⁷

Virus-2

Viruse	Sous-type	Concentration finale (TCID ₅₀ /mL)
Echovirus	6	7,,2×10 ⁵
Poliovirus	2	2,2×10 ⁷
Parainfluenza	2	2,2×10 ⁷

Pour toute assistance, veuillez contacter le support technique de Meridian Bioscience au **+390331433636** – Courriel : TS@meridianbioscience.com ou appelez le distributeur de votre pays.

ITALIANO

Rapid Strip Rota-Adeno

REF 751120 – 20 test

Test rapido immunocromatografico per il rilevamento di antigeni di Rotavirus ed Adenovirus in campioni fecali

FINALITÀ D'USO

La Rapid Strip Rota-Adeno è una procedura qualitativa *in vitro* per il rilevamento di antigeni di Rotavirus ed Adenovirus in campioni fecali.

SPIEGAZIONE

Il Rotavirus è uno dei principali agenti che causano la gastroenterite acuta, specialmente nei bambini di età inferiore ai due anni. La sua scoperta nel 1973 e la sua associazione con la gastroenterite infantile hanno rappresentato un importante passo avanti nello studio della gastroenterite acuta non di origine batterica. Il Rotavirus è trasmesso dal contatto oro-fecale ed ha un periodo di incubazione di 1-3 giorni. Sebbene, per il rilevamento dell'antigene, il periodo ideale per la raccolta dei campioni sia tra il secondo ed il quinto giorno, è possibile ritrovare il virus anche nei giorni successivi.

Poiché la coltura del Rotavirus è difficile, l'isolamento del virus per la diagnosi di infezione non viene abitualmente presa in considerazione. Al contrario, diverse tecniche sono state sviluppate per rilevare direttamente il virus nelle feci. La Rapid Strip Rota-Adeno è un test semplice per il rilevamento diretto di rotavirus nelle feci, altamente sensibile e specifico.

Il Rotavirus è stato descritto come l'agente più comune che causa diarrea nel mondo. Si stima che nei Paesi in via di sviluppo l'infezione da Rotavirus causi un milione di morti all'anno. È inoltre responsabile del 20-25% di morti per diarrea e causa il 6% di morte in bambini minori di 5 anni(Cook et al, Bull WHO, 1990;68:171-7).

L'adenovirus è la seconda causa più comune di gastro-enterite virale nei bambini (10-15%). Questo virus può causare anche problemi respiratori e, a seconda del sierotipo, anche diarrea, congiuntivite, cistite etc. Sono stati descritti almeno 47 sierotipi di adenovirus, tutti aventi in comune l'esone come antigene. I sierotipi 40 e 41 sono quelli associati alla gastroenterite il cui sintomo principale è la diarrea che può durare da 9 a 12 giorni associata a febbre e vomito.

La diagnosi di questi due virus è difficile se fatta con la coltura, quindi il rilevamento di particelle antigeniche virali nei campioni fecali è ora una tecnica diagnostica comune.

La **Rapid Strip Rota-Adeno** è un test immunologico che richiede 5 minuti, è basato su una tecnica immunocromatografica a flusso laterale che rileva gli antigeni di *Rotavirus* ed *Adenovirus* presenti in feci umane.

PRINCIPI BIOLOGICI

La Rapid Strip Rota-Adeno utilizza una combinazione di: 1) anticorpi monoclonali coniugati a particelle di lattice rosso-rosa, diretti contro l'antigene VP6 del gruppo A dei Rotavirus, ed anticorpi specifici anti-Rotavirus in fase solida. 2) anticorpi monoclonali coniugati a particelle di lattice blu, diretti contro l'esone (presente in tutti i sottotipi umani di Adenovirus) dell'Adenovirus, ed anticorpi specifici anti-Adenovirus in fase solida.

Nell'utilizzo del test è previsto un trattamento del campione con una soluzione di estrazione (diluente del campione) per estrarre gli antigeni di Rotavirus e Adenovirus dalle feci. Dopo l'estrazione, l'unico passaggio richiesto è laggiunta dell'estratto e della strip in una provetta. Non appena il campione comincia il suo flusso attraverso la membrana, le particelle colorate migrano. Nel caso di un risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana cattureranno le particelle colorate. Linee colorate diverse saranno visibili a seconda del virus presente nel campione. Queste linee, dopo 5 minuti di incubazione a temperatura ambiente, sono utilizzate per l'interpretazione dei risultati.

MATERIALI FORNITI

Il kit contiene il materiale necessario per effettuare 20 test:

- Strip di reazione(20) sigillate individualmente, contenenti anticorpi immobilizzati anti-*Rota* e anti-*Adeno* (nella zona test).
- 1 flacone di diluente del campione (30 ml)

MATERIALI NON FORNITI:

1. Guanti in lattice monouso da utilizzare durante il trattamento dei campioni fecali considerati come materiale potenzialmente infettivo
2. Tampone/Ansa per raccogliere il campione fecale
3. Vortex per sospendere il campione fecale nel diluente del campione
4. Provette per l'estrazione
5. Pipette
6. Timer

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico "In Vitro".
2. Non utilizzare il test oltre la data di scadenza.
3. Non scambiare reagenti appartenenti a lotti differenti
4. I reagenti ed i campioni dovrebbero essere portati a temperatura ambiente (si consiglia 20-30 minuti) prima dell'uso, campioni e/o reagenti freddi possono variare le caratteristiche del test.
5. Non utilizzare la strip se prima di effettuare il test appare una linea colorata nella zona di reazione
6. Il test non sarà eseguito in maniera idonea se la quantità di campione fecale è eccessiva o scarsa.
7. Le feci devono essere mescolate molto bene (indipendentemente dalla consistenza) per assicurare il prelievo di un campione rappresentativo.
8. I campioni dei pazienti possono contenere agenti infettivi, pertanto dovrebbero essere trattati come potenzialmente a rischio.
9. Eliminare tutti i materiali usati durante il test in appositi contenitori e trattarli come potenzialmente infettivi.

Il diluente del campione contiene Sodio Azide (0,095 %) come conservante. Evitare il contatto con la pelle.

STABILITA' E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è indicata sull'involucro di ogni strip. Conservare il kit a 2-30°C. Non congelare.

TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

La raccolta dei campioni deve essere fatta non appena appaiono i sintomi. Il numero di particelle virali decremente dopo l'ottavo giorno, rendendo la diagnosi più difficile.

Il campione dovrebbe pervenire in un mezzo di trasporto a tenuta d'aria e conservato a 2-8°C prima di essere testato. I campioni possono rimanere conservati in frigorifero per 1-2 giorni. Qualora il test non potesse essere eseguito in questo lasso di tempo, il campione dovrebbe

essere conservato in congelatore a -20°C. In tal caso prima di effettuare il test, il campione deve essere totalmente scongelato, portato a temperatura ambiente ed omogeneizzato.

NOTA: Campioni fecali in terreni di trasporto, tamponi o campioni contenenti conservanti non sono adatti al test .

PROCEDURA

1. Trasferire 1 ml di diluente del campione in una provetta.
2. Aggiungere una piccola porzione di fuci, 5-6 mm di diametro (30-50 mg), utilizzando un tampone, un bastoncino di legno o un ansa. Per fuci liquide o semi-solidi aggiungere 100 microlitri di campione fecale utilizzando una pipetta appropriata. Mescolare bene per risospendere il campione nel tampone.
3. Omogeneizzare passando al vortex per 15 secondi .
4. Attendere almeno tre minuti finché le particelle solide sedimentano o centrifugare per un minuto a 700 xg e trasferire, con una pipetta, 500 microlitri di surnatante in una seconda provetta.
5. Immergere la strip nella seconda provetta facendo in modo che la freccia sulla strip punti verso il basso.
IMPORTANTE: Il liquido non deve raggiungere l'area blu sopra le frecce. Se necessario, utilizzare una provetta di diametro maggiore o ridurre la quantità di campione.
6. Incubare il test a 19-27 °C per 10 minuti, quindi leggere i risultati come descritto nella sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI di seguito. Qualsiasi linea dovesse apparire dopo 10 minuti non ha valore diagnostico.

Nota: la strip può essere introdotta nella prima provetta se larga abbastanza per evitare che il liquido raggiunga l'area blu sopra le frecce. Comunque ,in rari casi, se si utilizza un campione diluito troppo concentrato ,l'assorbimento può risultare difficoltoso.

In alternativa, la strip può essere immersa per 10 secondi nella provetta, evitando di raggiungere l'area sopra le frecce, e poi trasferita sul banco da lavoro durante la migrazione.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato negativo: appare solo una banda **VERDE** (linea di controllo) nell'area bianca centrale della strip. Gli antigeni di *Rotavirus* e *Adenovirus* sono assenti o al di sotto del limite di identificazione del metodo.

Risultato positivo: Oltre alla banda **VERDE** (linea di controllo) nell'area bianca centrale della strip appare anche una distinguibile banda **ROSSO-ROSA**, che indica che ci sono rilevabili concentrazioni di antigene di *Rotavirus* nel campione, e/o una distinguibile banda **BLU**, che indica che ci sono rilevabili concentrazioni di antigene di *Adenovirus* nel campione. L'intensità della banda è variabile secondo la concentrazione dell'antigene presente nel campione. Qualsiasi linea ROSSO-ROSA o BLU, anche se molto debole, deve essere considerata come un risultato positivo. Passati 10 minuti qualsiasi linea o colore visibile non ha valore diagnostico.

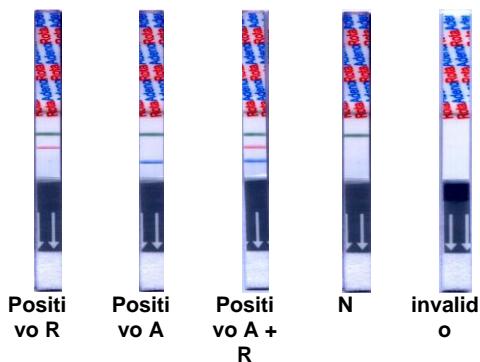
Risultato Non Valido: L'area delle bande rimane bianca, non ci sono linee visibili o si evidenzia solo una banda rossa o solo una banda blu (senza linea verde di controllo). Il campione dovrebbe essere ritestato utilizzando una nuova strip.

Sigle per l'interpretazione delle immagini della strip:

R: *Rotavirus*

A: *Adenovirus*

N: Negativo



CONTROLLO DI QUALITÀ'

L'assenza di una banda verde (Linea di controllo) invalida il test poiché è indice di procedura incorretta o deterioramento di reagenti.

LIMITI DELLA PROCEDURA

1. IL test dev'essere utilizzato solo per il rilevamento di antigeni di *Rotavirus* ed *Adenovirus* in campioni fecali.
2. Il test è qualitativo e quindi, in fase di lettura, i risultati non devono essere interpretati in modo quantitativo in base all'intensità della linea. Più di 200 campioni sono stati valutati per assicurare la corretta prestazione del test. I risultati ottenuti con altra tecnica (ELISA) correlavano in modo perfetto. Comunque non possono essere escluse interferenze nell'esecuzione del test.
3. Un eccesso di campione fecale può causare la comparsa di linee di **colore marrone** invece di linee rosse o blu. Queste linee marroni non hanno valore diagnostico. In tal caso ripetere il test utilizzando una quantità inferiore di campione fecale o diluire l'estratto già preparato.
4. Nessuna cross-reazione con altri virus o sostanze è stata osservata durante la valutazione del test. Un risultato negativo non esclude completamente una possibile infezione da *Rotavirus* o *Adenovirus*. I risultati del test dovrebbero essere valutati in relazione ai sintomi del paziente.
5. L'analisi di alcuni campioni potrebbe dare origine a linee di colore indefinito dovute, nella maggioranza dei casi, a campioni negativi. Quando compaiono linee di colore indefinito il test deve essere ripetuto. Qualora si ottenesse nuovamente lo stesso tipo di risultato, si suggerisce di ripetere le analisi con una metodica differente.

PRESTAZIONI DEL TEST

SENSIBILITÀ ANALITICA

Il Limite inferiore di Rilevabilità per la striscia di Rota-Adeno è di 31 ng/mL per entrambi gli antigeni Rotavirus e Adenovirus.

SENSIBILITÀ E SPECIFICITÀ DIAGNOSTICA

SAGGIO 1

Un test ELISA marcato CE è stato utilizzato come test di riferimento. Il test Rapid Strip Rota-Adeno è stato confrontato con un sistema di analisi in ELISA per la rilevazione di antigeni di Rotavirus e con un secondo ELISA per la rilevazione di antigeni di Adenovirus.

ROTAVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	12	0
	-	2	88

Percentuale di concordanza: $100\%[(12+88)/102] = 98,04\%$.

Valore Predittivo Positivo: $100\%[12 / (12+0)] = >99,9\%$.

Valore Predittivo Negativo: $100\%[88 / (88+2)] = 97,8\%$.

ADENOVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	6	0
	-	0	96

Percentuale di concordanza: $100\%[(6+96)/102] = >99,9\%$.

Valore Predittivo Positivo: $100\%[6 / (6+0)] = >99,9\%$.

Valore Predittivo Negativo: $100\%[96 / (0+96)] = >99,9\%$.

SAGGIO 2

Come test di riferimento sono stati utilizzati due ELISA per la rilevazione di ciascuna antigene come sopra, approvati nel mercato giapponese, allo scopo di confermare i risultati ottenuti.

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	80	1
	-	26	307

Percentuale di concordanza: $100\%[(80+307)/414] = 93,5\%$.

Valore Predittivo Positivo: $100\%[80 / (80+1)] = 98,8\%$.

Valore Predittivo Negativo: $100\%[307 / (307+1)] = 92,2\%$.

ADENOVIRUS.

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	40	1
	-	13	360

Percentuale di concordanza: $100\%[(40+360)/414] = 96,6\%$

Valore Predittivo Positivo: $100\%[40 / (40+1)] = 97,6\%$.

Valore Predittivo Negativo: $100\%[360 / (360+13)] = 96,5\%$.

PRECISIONE INTRA-SAGGIO – RIPETIBILITÀ'

Tre duplicati di ciascuna concentrazione della curva di sensibilità sono stati esaminati usando tre distinti lotti e sono stati ottenuti gli stessi risultati.

PRECISIONE – RIPRODUCIBILITÀ'

PRECISIONE INTER-SAGGIO (GIORNI CONSECUTIVI)

Dieci duplicati della curva di sensibilità sono stati esaminati per dieci giorni consecutivi utilizzando 1 lotto del prodotto. Si è osservata la differenza di solo ½ diluizione, da considerarsi accettabile e tollerabile per il saggio.

PRECISIONE INTER-LABORATORIO

Tre differenti laboratori-operatori hanno esaminato quegli stessi campioni, presentando un'alta precisione e concordanza. Si è osservata la differenza di solo ½ diluizione, da considerarsi accettabile e tollerabile per il saggio.

PRECISIONE INTER-LOTTO

La curva di sensibilità è costruita in duplice utilizzando tre differenti lotti del prodotto. L'analisi è stata eseguita dalla stessa persona nello stesso giorno. Si è osservata la differenza di solo ½ diluizione, da considerarsi accettabile e tollerabile per il saggio.

EFFETTO HOOK

La quantità analizzata è stata di 2,000 ng/ml di Rotavirus + 2,000 ng/ml di Adenovirus. Il limite del test è di 31 ng/ml per il Rotavirus + 31 ng/ml per l'Adenovirus. Questa quantità è pari a 65 volte il limite del test. Un lotto è stato esaminato in duplice. Nessun effetto hook è stato osservato alla concentrazione equivalente a 65 volte il limite del test.

SOSTANZE INTERFERENTI

Le sostanze elencate in tabella, alle concentrazioni indicate, non interferiscono con i risultati. Per lo studio sono stati utilizzati tre lotti.

Bilirubina F: 0.9 – 1.1 mg/ml	Atropina (40 mg/dl)
Bilirubina C: 0.9 – 1.1 mg/ml	Caffeina (40 ng/dl)
Emoglobina: 22 – 27 mg/ml	Acido gentisico (40 mg/dl)
Acetaminofene (20 mg/dl)	Glucosio (2,000 mg/dl)
Acido acetilsalicilico(20 mg/dl).	Urea (4,000 mg/dl)
Ampicillina (40 mg/dl).	Acido urico (10 mg/dl)
Acido ascorbico (100 mg/dl)	

MICROORGANISMI INTERFERENTI

I microorganismi elencati, alle concentrazioni indicate, non interferiscono con i risultati.

Batteri. CONCENTRAZIONE (McF:5(1x10E8/ml)

<i>E.coli</i>	Group G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Group B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.milleri</i>
Group C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Sottotipo	Concentrazione finale (TCID ₅₀ /ml)
Influenza tipo A	H1N1	1.4×10 ⁶
Influenza tipo A	H3N2	3.0×10 ⁶
Influenza tipo B	Victoria	1.6×10 ⁶
Influenza tipo B	Yamagata	1.5×10 ⁷

Virus-2

Virus	Sottotipo	Concentrazione finale (TCID ₅₀ /ml)
Echovirus	6	7.2×10 ⁵
Poliovirus	2	2.2×10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2×10 ⁷

Per assistenza, contattare l'Assistenza tecnica Meridian Bioscience al numero +390331433636 – email: TS@meridianbioscience.com o contattare il distributore nazionale.

ESPAÑOL

Rapid Strip Rota-Adeno

REF 751120 – 20 tests

Método inmunocromatográfico rápido para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en material fecal humano

UTILIZACION SUGERIDA

El inmunoensayo cromatográfico Rapid Strip Rota-Adeno es un procedimiento para la detección cualitativa *in vitro* de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en la materia fecal humana.

INTRODUCCION

Los rotavirus son la principal causa de gastroenteritis agudas, especialmente en niños menores de dos años.. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantiles, representó un avance muy importante en el estudio de gastroenteritis no causadas por infección bacteriana aguda. Su transmisión tiene lugar por vía oral-fecal, siendo el periodo de incubación entre 1 y 3 tres días. Aunque lo ideal para detectar los antígenos, es recoger muestras entre el segundo y quinto día de la enfermedad, los rotavirus pueden ser detectados todavía mientras la diarrea continúa.

Debido a la complejidad del cultivo de rotavirus , no se suele emplear esta técnica como medio habitual de diagnóstico. En contraposición, se han desarrollado técnicas que permiten la detección rápida y directa de las partículas virales en las heces. El test Rapid Strip Rota-Adeno proporciona un método de detección simple y directo para los rotavirus en heces, que es altamente sensible, específico y rápido. Los rotavirus han sido descritos como la causa más común de diarrea en el mundo. Se calcula que en países en vías de desarrollo, la infección por rotavirus puede causar un millón de muertes al año, y supone entre el 20 y el 25 % de las muertes por diarrea y el 6% de todas las muertes entre niños de menos de cinco años (Cook et al, Bull WHO, 1990; 68:171-7).

Los adenovirus son la segunda causa de gastroenteritis virales en niños (10 -15 %) Además pueden causar enfermedades respiratorias y dependiendo del serotipo, diarrea, conjuntivitis, cistitis y otras. Se han identificado al menos 47 serotipos de adenovirus y en todos está presente el antígeno hexon. Los serotipos 40 y 41 son los asociados a la gastroenteritis. El principal síntoma clínico de las gastroenteritis debidas a adenovirus es la diarrea, entre 9 y 12 días, apareciendo también fiebre y vómitos.

El diagnóstico de ambos virus es difícil por cultivo, por lo que la detección de antígenos en muestras fecales humanas se ha convertido en una técnica común de diagnóstico. El test **Rapid Strip Rota-Adeno** es un inmunoensayo rápido (5 minutos) basado en una técnica cromatográfica que detecta antígenos de Rotavirus y Adenovirus en material fecal humano.

PRINCIPIOS BIOLOGICOS

El test rapid strip Rota-Adeno utiliza una combinación de: 1) anticuerpos monoclonales contra el antígeno VP6 del grupo A de rotavirus, conjugados a partículas de látex rojas, y anticuerpos monoclonales específicos para rotavirus en la membrana. 2) anticuerpos monoclonales contra el antígeno hexon de adenovirus (presente en todos los subtipos de adenovirus), conjugados a partículas de látex azules y anticuerpos monoclonales específicos para adenovirus en la membrana.

En este test la muestra es tratada primeramente con un diluyente de muestra para extraer los antígenos de rotavirus y adenovirus de las heces. Tras la extracción, sólo se necesita poner el extracto y la tira reactiva en un tubo.

Cuando el extracto de la muestra fluye a través de la membrana del test, las partículas coloreadas migran. En el caso de un resultado positivo los anticuerpos específicos, presentes en la membrana, capturarán las partículas coloreadas.

Diferentes líneas de color serán visibles, dependiendo del contenido de virus en la muestra. Estas líneas se usan para interpretar el resultado, a los cinco minutos de incubación a temperatura ambiente.

MATERIALES INCLUIDOS EN EL KIT

El kit contiene todo el material necesario para efectuar 20 tests:

- 20 tiras rapid strip Rota-Adeno, embaladas individualmente, que contienen anticuerpos anti-Rota y anti-Adeno inmovilizados en la zona de resultado del test.
- Bote de diluyente de muestra (1) de 30 ml.

MATERIALES NO INCLUIDOS EN EL KIT

1. Guantes de látex de un solo uso, que deben ser utilizados durante la manipulación de muestras fecales, puesto que son consideradas como material potencialmente peligroso.
2. Hisopo/Espátula para recoger la muestra fecal.
3. Vortex para asegurar una buena extracción de la muestra fecal.
4. Tubos de ensayo para la dilución de muestras.
5. Pipetas
6. Cronómetro

PRECAUCIONES

1. Utilizar todos los reactivos únicamente *in vitro*.
2. No usar los componentes del kit después de las fechas de caducidad.
3. No intercambiar reactivos de kits con distinto número de lote.
4. Antes de usarlos, dejar que todos los componentes del kit y muestras alcancen la temperatura ambiente, pues reactivos y/o muestras fríos pueden reducir la funcionalidad del test. Se recomiendan de 20 a 30 minutos para alcanzar la temperatura ambiente.
5. No usar el test si alguna línea de color se ve en la zona de resultados antes de empezar a usarlo.
6. El test no funcionará correctamente si la cantidad de muestra es demasiado grande o pequeña.
7. Para asegurar una muestra representativa antes de la toma de muestra la materia fecal se deberá mezclar completamente independientemente de la consistencia de la misma.
8. Las muestras de los pacientes pueden contener agentes infecciosos y deberán ser tratadas y desechadas como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
10. Poner en un contenedor para residuos biológicos, todos los materiales que se hayan usado.

El diluyente de la muestra contiene azida de Sodio (0,095 %) como conservante. Evitar todo contacto con la piel.

CADUCIDAD Y ALMACENAMIENTO

La fecha de caducidad está impresa en el embalaje de cada tira reactiva. Almacenar a 2-30°C. No congelar.

MANIPULACION DE LA MUESTRA

Las muestras deben tomarse tan pronto como los síntomas aparezcan. La cantidad de partículas virales decrece a partir de los 8 días, haciendo más difícil el diagnóstico. Las muestras deberán recibirse en un envase de transporte hermético adecuado y almacenarse a 2°-8°C hasta ser analizadas. La muestra deberá analizarse lo antes posible, no obstante puede guardarse de 1 a 2 días a 2°-8°C antes del análisis. Para almacenarse por mas tiempo se deben congelar a -20°C. En este caso, las muestras deben ser totalmente descongeladas, llevadas a temperatura ambiente y homogeneizadas antes del test.

NOTA: Las muestras de materia fecal que provengan de otro medio liquido de transporte, de hisopos o con conservantes no son apropiadas para el análisis.

PROCEDIMIENTO

1. Transferir 1.0 ml de diluyente de muestra en un tubo de ensayo o vial.
2. Añadir una porción de muestra de 5-6 mm aproximadamente (30-50mg), con una espátula, hisopo o un asa bacteriológica. Para heces líquidas o semisólidas añadir 100 microlitros de materia fecal con una pipeta adecuada. Agitar vigorosamente para lograr una suspensión de la muestra en el diluyente.
3. Agitar en el Vortex durante 15 segundos.
4. Esperar al menos 3 minutos hasta que las partículas sólidas se hayan depositado en el fondo o centrifugar por un minuto a 700 xg, y con la ayuda de una pipeta transferir 500 microlitros del sobrenadante a otro tubo de ensayo.
5. Introducir la tira reactiva en el segundo tubo de ensayo, con las flechas indicando hacia el fondo del tubo.
IMPORTANTE: el líquido no debe nunca alcanzar la zona donde están las flechas. Si fuese necesario, utilizar un tubo mas largo o reducir la cantidad de muestra
6. Incube la prueba a 19-27 C durante 10 minutos y lea luego los resultados como se describe en la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS a continuación. Cualquier línea que pueda aparecer después de los 10 minutos no tiene ningún valor diagnóstico.

Nota : la tira puede también introducirse en el primer tubo o vial, siempre que éste sea lo suficientemente grande para que el líquido no alcance la zona donde están las flechas. No obstante, raras veces ocurre que al utilizar una muestra muy concentrada la absorción se ve dificultada.

Alternativamente la tira se puede sumergir por 10 segundos en el primer tubo, evitando sobreponer la punta de las flechas y luego dejarla reaccionar sobre una superficie horizontal.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

Resultado negativo del test: Sólo aparece una línea de color **VERDE** (línea de control) en la parte central blanca de la tira. Un resultado negativo nos indica que los antígenos de Rota y Adenovirus no están presentes o lo están por debajo del nivel de detección.

Resultado positivo del test: Además de la línea **VERDE** (línea de control), aparece otra línea en la parte central blanca de la tira, **ROSADA-ROJA** (línea de resultado, indicando que hay antígenos de Rotavirus detectables en la muestra) o **AZUL** (línea de resultado, indicando que hay antígenos de Adenovirus detectables en la muestra) . La intensidad de la línea varía según la concentración de antígeno en la muestra. Cualquier línea rosa-roja o azul aunque sea débil debe considerarse como un resultado positivo. Cualquier línea o color que aparezca después de 10 minutos no tiene ningún valor diagnóstico.

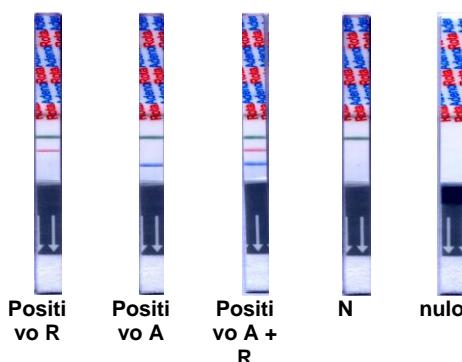
Resultado inválido del test: La ventana de resultados permanece blanca, no hay líneas visibles o sólo hay una azul o sólo una roja. La muestra debe ser ensayada de nuevo con otra tira reactiva

Código de interpretación de las imágenes de las tiras.

R: Rotavirus

A: Adenovirus

N: Negativo



CONTROL DE CALIDAD

Si no aparece ninguna línea en la parte central blanca de la tira, el test es inválido, ya sea por que se llevo a cabo incorrectamente o por que los reactivos se han deteriorado.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

1. El test debe usarse sólo para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en heces.
2. El test es cualitativo y cuando se reporte el resultado no debe hacerse ninguna interpretación cuantitativa en relación directa a la intensidad de la línea positiva.
3. Más de 200 muestras fueron evaluadas para asegurar el correcto funcionamiento del test. La correlación de resultados con otras técnicas (ELISA) fue excelente. Sin embargo, no se deben excluir interferencias en el funcionamiento del test.

4. Con un exceso de muestra pueden aparecer **líneas marrones** en vez de rojas y azules. Estas líneas marrones no tienen ningún valor diagnóstico. En este caso se debe repetir el test con una cantidad menor de muestra o diluir el extracto ya hecho.
5. No se ha observado ninguna reacción cruzada con otros virus o sustancias durante la evaluación del test. Un resultado negativo no excluye totalmente una posible infección por Rotavirus o Adenovirus. La importancia de los resultados debe ser evaluada con relación a los síntomas clínicos del paciente.
6. El análisis de algunas muestras puede dar líneas con colores indefinidos, causados en la mayoría de los casos por muestras negativas. Cuando aparezcan estas líneas de coloración indefinida, debe repetirse el test. En el caso de obtenerse el mismo resultado se sugiere realizar el análisis con otro método analítico.

CARACTERISTICAS DE FUNCIONAMIENTO

SENSIBILIDAD ANALÍTICA

El límite inferior de detección de la tira de Rota-Adeno es de 31 ng/mL, tanto para los rotavirus como para los antígenos de adenovirus.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

ENSAYO 1

Se toma como producto de referencia un producto de la técnica ELISA con marcado CE. Se evalúa el Rapid Strip Rota-Adeno frente a un ELISA para detección de antígenos de Rotavirus y frente a otro ELISA para detección de antígenos de Adenovirus. Los resultados fueron:

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	12	0
	-	2	88

Porcentaje concordancia: $100\%[(12+88)/102] = 98,04\%$.

Concordancia sensibilidad estimada: $100\%[12 / (12+0)] = >99,9\%$.

Concordancia especificidad estimada: $100\%[88 / (88+2)] = 97,8\%$.

ADENOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	6	0
	-	0	96

Porcentaje concordancia: $100\%[(6+96)/102] = >99,9\%$.

Concordancia sensibilidad estimada: $100\%[6 / (6+0)] = >99,9\%$.

Concordancia especificidad estimada: $100\%[96 / (0+96)] = >99,9\%$.

ENSAYO 2

Se toma un segundo resultado de referencia, dos ELISAS para la detección de cada uno de los antígenos como en el caso anterior, aprobados en el mercado Japonés, para corroborar resultados obtenidos.

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	80	1
	-	26	307

Porcentaje concordancia: $100\%[(80+307)/414] = 93,5\%$.

Concordancia sensibilidad estimada: $100\%[80 / (80+1)] = 98,8\%$.

Concordancia especificidad estimada: $100\%[307 / (307+26)] = 92,2\%$.

ADENOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	40	1
	-	13	360

Porcentaje concordancia: $100\%[(40+360)/414] = 96,6\%$.

Concordancia sensibilidad estimada: $100\%[40 / (40+1)] = 97,6\%$.

Concordancia especificidad estimada: $100\%[360 / (360+13)] = 96,5\%$.

PRECISIÓN INTRAENSAYO - repetibilidad

Se ensayan tres réplicas de cada concentración de la curva de sensibilidad con tres lotes distintos y se obtienen los mismos resultados.

PRECISIÓN – REPRODUCIBILIDAD

PRECISIÓN INTERDÍA

Con 1 lote de producto, se realizan diez réplicas de la curva de sensibilidad a lo largo de diez días consecutivos. Sólo se aprecia una diferencia de media dilución, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

PRECISION INTERLABORATORIO

Tres laboratorios-operadores distintos ensayan esas mismas muestras manteniendo precisiones y concordancias elevadas. Sólo se aprecia una diferencia de media dilución, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

PRECISION INTERLOTE

Con 3 lotes de producto se realiza una curva de sensibilidad por duplicado. El análisis lo realiza una persona y en el mismo día. Sólo se aprecia una diferencia de media dilución, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

EFFECTO HOOK

La cantidad que se ha testado ha sido 2.000 ng/ml Rota + 2.000 ng/ml Adeno. El límite del test es 31 ng/ml Rota + 31 ng/ml Adeno. Esta cantidad es 65 veces superior al límite del test. Se teeta un lote por duplicado. No se ha observado efecto Hook en una concentración 65 veces superior al límite del test.

SUSTANCIAS INTERFERENTES

Las sustancias descritas en la tabla, y a la concentración indicada no dieron lugar a interferencia en el resultado. Se utilizaron tres lotes para realizar el estudio.

Bilirrubina F: 0,9 – 1,1 mg/ml	Atropina (40 mg/dl)
Bilirrubina C: 0,9 – 1,1 mg/ml	Cafeína (40 ng/dl)
Hemoglobina: 22 – 27 mg/ml	Ácido Gentisico (40 mg/dl)
Acetamidofeno (20 mg/dl)	Glucosa (2.000 mg/dl)
Ácido Acetilsalicílico (20 mg/dl).	Urea (4.000 mg/dl)
Ampicilina (40 mg/dl).	Ácido úrico (10 mg/dl)
Ácido Ascórbico (100 mg/dl)	

MICROORGANISMOS INTERFERENTES

Los microorganismos indicados, a la concentración descrita no dieron lugar a interferencia en el resultado.

Bacterias. CONCENTRACIÓN (McF:5 (1x10E8/ml)

<i>E.coli</i>	Groupe G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Groupe B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.milleri</i>
Groupe C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Subtipo	Concentración final. (TCID ₅₀ /ml)
Influenza type A	H1N1	1.4×10 ⁶
Influenza type A	H3N2	3.0×10 ⁶
Influenza type B	Victoria	1.6×10 ⁶
Influenza type B	Yamagata	1.5×10 ⁷

Virus-2

Virus	Subtipo	Concentración final. (TCID ₅₀ /ml)
Echovirus	6	7.2×10 ⁵
Poliovirus	2	2.2×10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2×10 ⁷

Para obtener asistencia, póngase en contacto con el Servicio Técnico de Meridian Bioscience llamando al teléfono +390331433636 o enviando un correo electrónico a TS@meridianbioscience.com, o llame a nuestro distribuidor en su país.

DEUTSCH

Rapid Strip Rota-Adeno

REF 751120 – 20 tests

Immunchromatographischer Schnelltest für den Nachweis von Rotavirus und Adenovirus Antigenen in Stuhlproben.

VERWENDUNGSZWECK

Rapid Strip Rota-Adeno ist ein qualitativer Schnelltest für den *in vitro* Nachweis von Rota- und Adenovirusantigenen in humanen Stuhlproben.

EINLEITUNG

Rotavirus ist der auslösende Erreger infektiöser Gastroenteriden, in erster Linie bei Kindern unter 2 Jahren. Seine Entdeckung im Jahr 1973 und sein Zusammenhang mit Gastroenteritis bei Kindern war ein wichtiger Fortschritt für die Abklärung von nicht bakteriellen Gastroenteriden. Die Rotavirusinfektion erfolgt durch fäkal-orale Kontakt, bei einer Inkubationszeit von 1-3 Tagen. Obwohl der ideale Zeitpunkt der Probenentnahme für den Nachweis des Antigens zwischen dem 2. und dem 5. Tag der Erkrankung liegt, kann das Rotavirus auch während einer fortwährenden Diarrhoe nachgewiesen werden.

Da die Kultur von Rotavirus außerordentlich schwierig ist, eignet sich die Isolierung des Virus für die Diagnose einer Infektion nicht. Indessen wurden verschiedene Techniken für den direkten Nachweis des Virus im menschlichen Stuhl entwickelt. Der *Rapid Strip Rota-Adeno* Test dient zum einfachen und schnellen Direktnachweis von Rotavirusantigenen im Stuhl. Er ist hoch sensitiv und spezifisch.

Rotavirus wird als der häufigste Durchfall-Erreger der Welt beschrieben. In den Dritt Weltländern werden die Todesfälle durch Rotavirusinfektionen auf 1 Million pro Jahr geschätzt. Das Virus wird für 20 – 25% der Todesfälle im Fall von Diarrhoe bei Erwachsenen verantwortlich gemacht, sowie für 6% der Todesfälle bei Kindern unter 5 Jahren (Cook et al. Bull. WHO 1990; 68: 171-177).

Das Adenovirus ist der zweithäufigste Auslöser viraler Gastroenteriden bei Kindern (10 – 15%). Ebenso kann das Virus auch respiratorische Erkrankungen auslösen und - je nach Serotyp – auch Durchfallerkrankungen, Konjunktivitis, Zystitis etc. Für Adenoviren wurden mindestens 47 Serotypen mit einem gemeinsamen „Hexon-Antigen“ beschrieben. Es sind die Serotypen 40 und 41, die mit Gastroenteritis in Zusammenhang gebracht werden. Es tritt dabei lang anhaltender (zwischen 9 und 12 Tagen Dauer) Durchfall mit erhöhter Temperatur und Erbrechen auf.

Da die Kultur der beiden Viren schwierig ist, ist der Nachweis viralen Antigenpartikel in menschlichen Stuhlproben die häufigste diagnostische Methode. Der *Rapid Strip Rota-Adeno* Test ist ein 5 Minuten-Immunoassay auf Lateralflow-Basis zum Nachweis von Rota- und Adenovirusantigenen.

BIOLOGISCHES PRINZIP

Der *Rapid Strip Rota-Adeno* Test besteht aus folgenden Komponenten:

- 1) Mit roten Latexpartikeln konjugierte, monoklonale Antikörper gegen das VP6 Antigen der Gruppe A Rotaviren und spezifisch gegen Rotaviren gerichtete Festphasenantikörper.
- 2) Mit blauen Latexpartikeln konjugierte, monoklonale Antikörper gegen das „Hexon-Antigen“ von Adenoviren (vorhanden in allen humanen Serotypen von Adenovirus) sowie spezifisch gegen Adenoviren gerichtete Festphasenantikörper.

Bei der Testdurchführung wird die Probe zunächst mit einer Probenverdünnungspuffer behandelt, um Rota- und Adenovirusantigene aus dem Stuhl zu extrahieren. Anschließend werden nur noch das Extrakt und der Streifen zusammen in einem Röhrchen inkubiert. Während die Probe durch die Testmembran fliesst, wandern auch die gefärbten Partikel. Im Falle eines positiven Ergebnisses werden die latexkonjugierten Antikörper über die in der Probe vorhandenen Antigene an die spezifischen Festphasenantikörper der Membran gebunden.

Abhängig vom Virus-Vorkommen in der Probe werden ein oder zwei verschieden farbige Linien sichtbar, die nach 5 Minuten Inkubationszeit bei Raumtemperatur der Interpretation der Ergebnisse dienen.

MITGELIEFERTE MATERIALIEN

Jeder Kit enthält alles Notwendige für die Durchführung von 20 Tests:

- 20 Reaktionsstreifen mit immobilisierten Anti-Rota- und Anti-Adeno-Antikörpern (Testzone), einzeln in Folie verpackt.
- 1 Fläschchen mit Probenverdünnungspuffer, 30 ml

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

1. Einmal-Handschuhe zur Handhabung der Stuhlproben, welche als potentiell infektiös angesehen werden müssen
2. Applikatoren zur Entnahme der Stuhlprobe
3. Vortex-Mischer zum Suspendieren der Stuhlprobe
4. Teströhrchen für die Extraktionslösung
5. Tranfer-Pipeten
6. Stopp-Uhr

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Alle Reagenzien sind nur zur *in vitro* Diagnostik bestimmt.
2. Der Testkit darf nur bis zum angegebenen Verfalldatum verwendet werden.
3. Reagenzien aus Testkits mit unterschiedlicher Chargennummer dürfen nicht ausgetauscht werden.
4. Kit-Komponenten und Proben vor Gebrauch auf Raumtemperatur kommen lassen (innerhalb von 20–30 Minuten). Kalte Reagenzien und/oder Proben können die Ergebnisse des Tests beeinträchtigen.
5. Keinen Teststreifen verwenden, bei dem schon vor der Durchführung farbige Linien in der Testzone sichtbar sind.
6. Zu grosse oder zu geringe Mengen an Stuhlprobe beeinträchtigen das Testergebnis.
7. Um die Entnahme einer representativen Probe zu gewährleisten muss der Stuhl, unabhängig von der Konsistenz, vor der Extraktion sorgfältig gemischt werden.
8. Alle Proben und das verwendete Material müssen als potentiell infektiös betrachtet werden und entsprechend behandelt und entsorgt werden.
9. Der Probenverdünnungspuffer enthält Natriumazid (0,095%) als Konservierungsmittel. Hautkontakt vermeiden!

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett der Testpackung angegeben. Den Kit bei 2 - 30°C lagern, nicht einfrieren.

HANDHABUNG DER PROBEN

Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Proben sofort nach dem Einsetzen der Symptome genommen werden. Die Menge der ausgeschiedenen Viruspartikel vermindert sich innerhalb von 8 Tagen, was die Diagnose erschwert.

Die Proben sollten in einem luftdichten Behältnis transportiert werden und bis zur Verarbeitung bei 2-8°C aufbewahrt werden. Die Proben können 1 bis 2 Tage lang im Kühlschrank aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrungszeit muss die Probe bei -20°C tiefgefroren werden. In diesem Fall muss die Probe vor der Testdurchführung total aufgetaut sein, auf Raumtemperatur gebracht und homogenisiert werden.

Hinweis: Stuhlproben in Transportmedien, Konservierungsmitteln oder Abstrichmaterial sind für den Test ungeeignet.

TESTDURCHFÜHRUNG

1. Für jede zu analysierende Probe 1,0 ml Probenverdünnungspuffer in ein Teströhrchen geben.
2. Eine Menge von ca. 5-6 mm Stuhlprobe (30-50mg) mit einem Holzstäbchen, einem Spatel oder einer Impfschlinge zugeben. Flüssiger oder halbfester Stuhl mit einer geeigneten Pipette 100 mikroliter Stuhl geben. Sorgfältig schütteln, um eine Suspendierung zu erreichen.
3. 15 Sekunden lang auf dem Vortex mischen.
4. Mindestens 3 Minuten warten, bis sich die festen Partikel abgesetzt haben oder 1 Minute bei 700xg zentrifugieren. Mit einer Pipette 500 ul des Überstandes in ein sauberes Teströhrchen überführen.
5. Reaktionsstreifen in dieses Teströhrchen eintauchen, wobei der Pfeil auf dem Streifen nach unten gerichtet sein muss.
WICHTIG: Die Flüssigkeit darf die blaue Zone oberhalb des Pfeils nicht bedecken. Bei Bedarf ein grösseres Gefäss verwenden oder die Probenmenge reduzieren.
6. Inkubieren Sie den Test bei 19–27 C für eine Dauer von 10 Minuten. Lesen Sie dann die Ergebnisse, wie unter AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE beschrieben wird, ab. Linien, die nach Ablauf dieser 10 Minuten erscheinen, haben keinen diagnostischen Wert.

Anmerkung: Der Teststreifen kann auch in das erste Probenröhrchen eingetaucht werden, falls dieses so gross ist, dass die blaue Zone oberhalb des Pfeils nicht von der Flüssigkeit benetzt wird. In seltenen Fällen ist es möglich, dass zu konzentrierte Proben die Absorption beeinträchtigen.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, den Teststreifen 10 Sekunden lang ins erste Probenröhrchen zu tauchen (das Benetzen der blauen Zone ist dabei zu vermeiden) und den Streifen zur Inkubation auf den Labortisch zu legen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Negatives Testergebnis:

Nur eine **GRÜN** gefärbte Bande (Kontroll-Bande) ist im weissen Mittelbereich des Teststreifens sichtbar. Die Probe enthält keine Rota- oder Adenovirus-Antigene oder sie sind unter der Nachweisgrenze.

Positives Testergebnis:

Zusätzlich zur grünen Kontrollbande ist im weissen Mittelbereich des Teststreifens eine **PINK-ROTE** Bande (Nachweis, dass in der Probe Rotavirus-Antigene vorhanden sind) und/oder eine **BLAUE** Bande (Nachweis, dass in der Probe Adenovirus-Antigene vorhanden sind) sichtbar.

Die Intensität der Bande kann in Abhängigkeit von der Antigenkonzentration in der Probe variieren. Jede, auch nur schwach pink-rot oder blau gefärbte Bande muss als positives Ergebnis gewertet werden. Jede Bande, die erst nach 10 Minuten Inkubationszeit erscheint, hat keinen diagnostischen Wert.

Ungültiges Testergebnis:

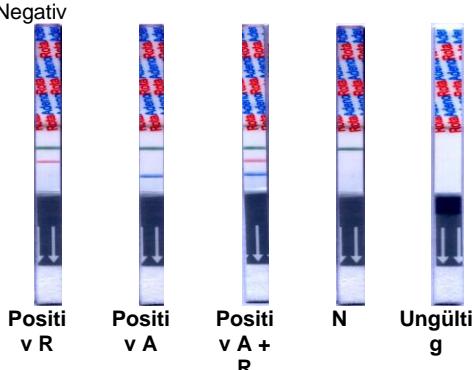
Das Ergebnisfeld bleibt WEISS und es sind keine Banden zu erkennen oder nur die rote und/oder blaue Bande ist zu sehen. Der Test muss mit einem neuen Teststreifen wiederholt werden.

Interpretationscode der Streifenbilder.

R: Rotavirus

A: Adenovirus

N: Negativ



QUALITÄTSKONTROLLE

Falls keine grüne Kontroll-Bande erscheint, ist der Test ungültig. Das Ergebnis ist auf eine fehlerhafte Durchführung des Tests oder auf schadhafte Reagenzien zurückzuführen.

EINSCHRÄNKUNGEN

- Der Test ist für den Nachweis von Rotavirus oder Adenovirus Antigenen in menschlichen Stuhlproben vorgesehen.
- Der Test ergibt ein qualitatives Ergebnis, quantitative Interpretationen auf Grund der Intensität der positiven Bande dürfen nicht gemacht werden.
- Zur Evaluation des Tests wurden mehr als 200 Proben getestet. Die Korrelation der Ergebnisse mit anderen Techniken (ELISA) waren ausgezeichnet. Störungen bei der Durchführung der Tests sind jedoch nie ganz auszuschliessen.
- Ein Überschuss von Probenmaterial kann zum Auftreten von braunen anstelle von roten oder blauen Banden führen. Solche braunen Banden sind von keiner diagnostischen Relevanz. In diesem Fall muss der Test mit einer geringeren Probenmenge wiederholt werden oder der Stuhlextrakt vor der erneuten Verwendung verdünnt werden.
- Kreuzreaktionen mit anderen Viren oder Substanzen wurden während Evaluation nicht gefunden. Ein negatives Ergebnis schliesst eine mögliche Infektion mit Rotavirus oder Adenovirus nicht vollständig aus. Die erhaltenen Ergebnisse sollten immer im Zusammenhang mit anderen klinischen Befunden bewertet werden.
- Einige Proben können Linien mit einer nicht eindeutigen Farbe ergeben. Dies kann vor allem bei negativen Proben vorkommen. In diesen Fällen sollte der Test wiederholt werden. Bei gleichem Resultat wird empfohlen, eine andere Analysenmethode einzusetzen.

LEISTUNGSMERKMALE

ANALYTISCHE SENSITIVITÄT

Die untere Nachweigrenze für den Rota-Adeno-Teststreifen liegt bei 31 ng/mL für die Antigene von Rotavirus bzw. Adenovirus.

DIAGNOSTISCHE SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT

ASSAY 1

Als Referenzprodukt dient ein Produkt der ELISA-Technik mit CE-Markierung. Der Rapid Strip Rota-Adeno wird gegenüber einem ELISA-Verfahren zur Bestimmung von Rotavirus-Antigenen und gegenüber einem weiteren ELISA-Verfahren zur Bestimmung von Adenovirus-Antigenen ausgewertet.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	12	0
	-	2	88

Konkordanzprozentanteil: 100%[(12+88)/102] = **98,04 %**.

Geschätzte Konkordanz Sensitivität: 100%[12 / (12+0)] = **>99,9%**.

Geschätzte Konkordanz Spezifität: 100%[88 / (88+2)] = **97,8%**.

ADENOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	6	0
	-	0	96

Konkordanzprozentanteil: 100% [(6+96)/102] = **>99,9%**.

Geschätzte Konkordanz Sensitivität: 100%[6 / (6+0)] = **>99,9%**.

Geschätzte Konkordanz Spezifität: 100%[96 / (0+96)] = **>99,9%**.

ASSAY 2

Ein zweites Referenzergebnis wird verwendet, zwei ELISA zur Bestimmung jedes einzelnen Antigens, wie im vorherigen Fall, die auf dem japanischen Markt zugelassen sind, um die erhaltenen Ergebnisse zu bestätigen.

ROTAVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	80	1
	-	26	307

Konkordanzprozentanteil: 100%[(80+307)/414] = **93,5%**.

Geschätzte Konkordanz Sensitivität: 100%[80 / (80+1)] = **98,8%**.

Geschätzte Konkordanz Spezifität: 100%[307 / (333)] = **92,2%**.

ADENOVIRUS

		Rapid Strip	
		+	-
ELISA	+	40	1
	-	13	360

Konkordanzprozentanteil: 100%[(40+360)/414] = **96,6%**.

Geschätzte Konkordanz Sensitivität: 100%[40 / (40+1)] = **97,6%**.

Geschätzte Konkordanz Spezifität: 100%[360 / (360+13)] = **96,5%**.

PRÄZISION ZWISCHEN DEN ASSAYS - WIEDERHOLBARKEIT

Drei Nachbildungen jeder Konzentration der Sensitivitätskurve mit drei verschiedenen Chargen wurden untersucht und die gleichen Ergebnisse erhalten.

PRÄZISION - REPRODUZIERBARKEIT

PRÄZISION ZWISCHEN TAGEN

Mit 1 Produktcharge wurden zehn Nachbildungen der Sensitivitätskurve an zehn aufeinander folgenden Tagen durchgeführt. Festzustellen ist lediglich ein Unterschied einer $\frac{1}{2}$ -Verdünnung, was für den ausführten Assay annehmbar und tragbar ist.

PRÄZISION ZWISCHEN LABORATORIEN

Drei verschiedene Laboratorien-Anwender prüften die gleichen Proben und erzielten hohe Präzisionen und Konkordanzen. Festzustellen ist lediglich ein Unterschied einer ½-Verdünnung, was für den ausgeführten Assay annehmbar und tragbar ist.

PRÄZISION ZWISCHEN DEN CHARGEN

Mit 3 Produktchargen wird eine doppelte Sensitivitätskurve ausgeführt. Die Analyse wird von der gleichen Person am gleichen Tag durchgeführt. Festzustellen ist lediglich ein Unterschied einer ½-Verdünnung, was für den ausgeführten Assay annehmbar und tragbar ist.

HOOK-EFFEKT

Die geprüfte Menge betrug 2.000 ng/ml Rota + 2.000 ng/ml Adeno. Der Testgrenzwert beträgt 31 ng/ml Rota + 31 ng/ml Adeno. Diese Menge liegt 65-Mal über der Testgrenze. Eine Charge wird doppelt getestet. Bei einer 65-Mal über der Testgrenze liegenden Konzentration war kein Hook-Effekt zu beobachten.

STÖRENDE SUBSTANZEN

Die in der Tabelle aufgeführten Substanzen und die angegebene Konzentration führten zu keiner Störung des Ergebnisses. Zur Durchführung der Studie wurden drei Chargen verwendet.

Bilirubin F: 0,9 bis 1,1 mg/ml	Atropin (40 mg/dl)
Bilirubin C: 0,9 bis 1,1 mg/ml	Koffein (40 ng/dl)
Hämoglobin: 22 bis 27 mg/ml	Gentisinsäure (40 mg/dl)
Acetamidophen (20 mg/dl)	Glukose (2.000 mg/dl)
Acetylsalicylsäure (20 mg/dl)	Harnstoff (4.000 mg/dl)
Ampicillin (40 mg/dl).	Harnsäure (10 mg/dl)
Ascorbinsäure (100 mg/dl)	

STÖRENDE MIKROORGANISMEN

Die aufgeführten Mikroorganismen führten bei der angegebenen Konzentration zu keiner Störung des Ergebnisses.

Bakterien: KONZENTRATION IN (McF:5 (1 x 10E8/ml)

<i>E.coli</i>	Groupe G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Groupe B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.milleri</i>
Groupe C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Subtyp	Endkonzentration. (TCID ₅₀ /ml)
Influenza Typ A	H1N1	1,4×10 ⁶
Influenza Typ A	H3N2	3,0×10 ⁶
Influenza Typ B	Victoria	1,6×10 ⁶
Influenza Typ B	Yamagata	1,5×10 ⁷

Virus-2

Virus	Subtyp	Endkonzentration. (TCID ₅₀ /ml)
Echovirus	6	7,2×10 ⁵
Poliovirus	2	2,2×10 ⁷
Parainfluenza	2	2,2×10 ⁷

Wenn Sie Unterstützung benötigen, wenden Sie sich an den Technischen Support von Meridian Bioscience unter +390331433636 – E-Mail: TS@meridianbioscience.com oder rufen Sie den Vertriebshändler in Ihrem Land an.

REFERENCES / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFÍA / LITERATURANGABEN

- F. Bon et al. *Prevalence of a group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France* Journal of Clinical Microbiology, Sept. 1999, p. **3055-3058**
- Bodo R. Eing et al. *Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of human rotaviruses in fecal specimens*, Journal of Clinical Microbiology, Dec. 2001, p.**4532-4534**
- Umesh D. Parashar et al. *Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children*, Emerging Infectious Diseases, vol. 9, No.5, May 2003, p. **565-572**

REV. 0623



Manufactured by

Meridian Bioscience Europe S.R.L.

Via Dell'industria 7 – 20035 Villa Cortese (Milano) – Italy
Telephone: (+39) 0331433636
E-mail: info@meridianbioscience.eu

Product Support: mbe-techservice@meridianbioscience.eu

For IFUs & MSDS www.meridianbioscience.com

For technical assistance and ordering, contact Meridian Bioscience Europe or your Local Distributor (www.meridianbioscience.com/diagnostics/distributors/)

INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product:

Key guide to symbols (Guida ai simboli, Guide des symboles, Guia de simblos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzabile entro / Utiliser jusqu'à / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controlla positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / Chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controlla negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negativer Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico diagnostico in vitro / Dispositivo medico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnosegerät	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea / Représentant autorisé dans la Communauté Européenne / Autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medici diagnostici in vitro / Ce produit répond aux exigences de la Directrice 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Esta producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnósticos in vitro / Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In-Vitro-Diagnosegeräte 98/79/EG.	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus contains Sample Dilution / Dispositivo per la preparazione di campioni contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente / System für Probenaufbereitung, in dem sich Probenverdünnergriffel befindet
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Número de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht eingefrieren
	Consort Instructions for Use / Consulter les instructions pour l'usage / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampon de réaction / Solution de réaction chimique / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluations Only / Soltanto para evaluaciones de las prestaciones / Réservé à l'évaluation des performances / Solo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsevaluierung
	Contains sufficient for "n" tests / Contiene suficiente para "n" test / Contient suffisante para "n" ensayos / Inhalt ausreichend für "n" Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Solution de Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limite di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Conjugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjunto enzimático / Enzymsconjuguat
SN	Serial number / Número de serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controlla del test / Test de contrôle / Control de ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo de prueba / Dispositif de test / Dispositivo de Prueba / Testgerät	REAG	Reagent / Reagente / Réactifs / Reactivos / Reagenzien
	Date of manufacture / Data di fabbricazione / Date de fabrication / Fecha de fabricación / Herstellungsdatum	BUF WASH	Wash Buffer / Soluzione di lavaggio / Solution de lavage / Témpon de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tamponi / Solution tamponnée / Tampon / Puffer		Warning / Avvertenza / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Conjugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Complemento / Diluant échantillons / Diluyente de muestras / Probenniedersetzungs puffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione di lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschpufferkonzentrat
R. Only	Prescription Use Only / Pour l'uso su prescrizione medica / Usuaggio sur prescription / Solo Para Use Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de détection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagens
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / Ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No usar si el paquete está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provaia vacua / Tube vide / Tubo vacío / Leerres Gefäß