

Rapid Strip ROTA-ADENO



REF 751120



For in vitro diagnostic
use only



20 tests

Meridian Bioscience Europe Srl

Via dell'Industria,7
I-20020 Villa Cortese ,Milano-Italy
Tel:+39 (0331) 433636
Fax:+39 (0331) 433616
E-mail:info@mdeur.com

Meridian Bioscience Europe salnv

Rue de l'industrie,7
B-1400 Nivelles-Belgium
Tel:+32 (67) 895959
Fax:+32 (67) 89 5958
E-mail:info@mdeur.be

Meridian Bioscience Europe France

Le Quadra
Promenade des Anglais,455
F-06299 Nice Cedex 3-France
Tel:+33 (4) 93187210
Fax:+33 (4) 93187211
E-mail:info@meridianbioscience.fr

Meridian Bioscience Europe bv

Haldenweiweg,6
NL-5282 SN Boxtel-The Netherlands
Tel:+31 (411) 621166
Fax:+31 (411) 624841
E-mail:meridian@wxs.nl

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 *Helicobacter pylori* en Muestras de Heeces

DEUTSCH p. 19

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

Website www.mdeur.com

Rapid Strip Rota-Adeno

Catalog # 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 temperature and vomits.

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 minutes 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) 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 fecal 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 pipets
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 too large or too small.
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 were capable of transmitting 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.

Stored the kit between 2 and 30° C. Do not freeze.

SPECIMEN HANDLING

Stool samples must be taken 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 1 to 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 in order 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 room temperature for no less than 5 but no more than 10 minutes. Read the test result in the white area.

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 to exceed 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 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 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

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.

LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

The test should be used only for the detection of rotavirus or adenovirus antigen in faecal samples.

The test is qualitative and no quantitative interpretation should be made with respect to the intensity of the positive line, when reporting the result.

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.

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.

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.

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

Sensitivity

After running a big amount of tests with different people reading in several conditions and with diverse lots, we have established a typical sensitivity of 8 ng/ml for rotavirus and 4 ng/ml for adenovirus at 10 min.

The diagnosis utility for this product has been evaluated from stool samples provided to the Microbiology Dpt. (virology section) of the Valladolid Clinico Universitario Hospital (mostly pediatric patient's samples)

Rotavirus: Comparison against the better analysis system, ELISA Ridascreen. Adenovirus: Comparison against a set of the used systems in the analysis; positive samples are those which has been detected at least for 2 of the employed tests.

The results obtained were :

	Rotavirus-102 samples	Rota-Adeno Meridian		Adenovirus-102 samples	Rota-Adeno Meridian
ELISA Rida screen	+ 12 - 2	0 88		Diagnostic	+ 6 - 0
	Sensitivity >99%			Sensitivity >99%	
	Specificity 97,80%			Specificity >99%	
	Positive predictive value 85,70%			Positive predictive value >99%	
	Negative predictive value >99%			Negative predictive value >99%	

Rapid Strip Rota-Adeno

Référence catalogue 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-fœcal, 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 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. Ecoovillons / 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 reactifs 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.
6. **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.
7. Lire le résultat du test après un minimum de 5 minutes et un maximum de 10 minutes d'incubation à température ambiante, dans la zone blanche centrale de la bandelette de test.

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 pailleasse 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 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 rouge et/ou de la ligne bleue obtenue(s) est variable, et dépend de la concentration d'antigènes dans l'échantillon. Toute ligne 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.

CONTROLE DE QUALITE

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 reactifs 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.

Rapid Strip Rota-Adeno

N° di Catalogo # 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. E' 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 rosse, 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.

PERFORMANCES DU TEST Sensibilité et spécificité

De nombreux tests effectués par des personnes différentes, dans des conditions différentes et sur plusieurs numéros de lot, ont permis d'établir une sensibilité typique de 8 ng/ml pour le rotavirus et 4 ng/ml pour l'adenovirus, à 10 minutes d'incubation.

L'utilité diagnostique du test **Rapid Strip Rota-Adeno** a été évaluée à partir d'échantillons de selles envoyés régulièrement au Département de Microbiologie (section virologie) de l'Hôpital Clinique Universitaire de Valladolid (Espagne). Il s'agit pour la plupart d'échantillons pédiatriques. Le test Rotavirus a été comparé avec le test ELISA Ridascreen, l'un des meilleurs systèmes d'analyse pour ce virus.

Le test Adenovirus a été comparé avec tous les systèmes d'analyse utilisés dans le laboratoire. L'échantillon est considéré comme positif lorsqu'il donne un résultat positif avec au minimum 2 des tests utilisés par le laboratoire.

Les résultats de l'évaluation sont donnés dans le tableau suivant :

Rotavirus 102 échantillons	Rapid Strip Rota-Adeno	Adenovirus 102 échantillons	Rapid Strip Rota-Adeno
	+		+
ELISA	12		6
Rida	0		0
screen	2		0
	-		-
	88		96
Sensibilité	>99%	Sensibilité	>99%
Spécificité	97,80%	Spécificité	>99%
Valeur prédictive positive	85,70%	Valeur prédictive positive	>99%
Valeur prédictive négative	>99%	Valeur prédictive négative	>99%

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 l'aggiunta 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-Rotavirus anti-Adeno (nella zona test).
- 1 fialone 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 vanare 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.

STABILITÀ 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 decremanta 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. Se il test non può 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 ai test.

PROCEDURA

1. Trasferire 1 ml di diluente del campione in una provetta.
2. Aggiungere una piccola porzione di feci, 5-6 mm di diametro (30-50 mg), utilizzando un tampone, un bastoncino di legno o un'ansa. Per feci liquide o semi-solide 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 surmatante 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 temperatura ambiente per non meno di 5 ma non più di 10 minuti. Leggere il risultato nell'area bianca.

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 ROSSA, 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 ROSSA 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.

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

Il test dev'essere utilizzato solo per il rilevamento di antigeni di Rotavirus ed Adenovirus in campioni fecali.

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.

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.

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.

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 indefinite 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**

Dopo aver effettuato molti test con diversi osservatori in diverse condizioni e con lotti diversi, si è stabilita una sensibilità di 8 ng/ml per Rotavirus e 4 ng/ml per adenovirus a 10 minuti.

L'utilità diagnostica della Rapid Strip Rota Adeno è stata valutata con campioni fecali inviati al Dipartimento di Microbiologia (sezione Virologia) dell' Ospedale Valladolid Clinico Universitario (la maggior parte erano campioni pediatrici).

Rotavirus: confronto con il sistema di analisi in ELISA Ridascreen

Adenovirus: confronto con molti dei sistemi di analisi impiegati. Si considerano positivi i campioni risultati positivi almeno a due dei test utilizzati. I risultati sono mostrati nella tabella seguente:

	Rotavirus-102 campioni		Adenovirus-102 campioni		Sensibilità	Specificità	Valore predittivo positivo	Valore predittivo negativo
	Rota-Adeno Meridian	+	Rota-Adeno Meridian	+				
ELISA Rida screen	+	12	0	6	0	>99%	>99%	>99%
	-	2	88	0	96	>99%	>99%	>99%

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.

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 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 hexón. Los serotipos 40 y 41 son los asociados a la gastroenteritis. El principal sintoma 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 hexón 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 más 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 líquido 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.
 6. **IMPORTANTE:** el líquido no debe nunca alcanzar la zona donde están las flechas. Si fuese necesario, utilizar un tubo más largo o reducir la cantidad de muestra
- Incluir no menos de 5 ni más de 10 minutos y leer el resultado en la zona central blanca de la tira.

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 sobrepasar 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; ROSA-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

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

El test debe usarse sólo para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en heces.

Rapid Strip Rota-Adeno

Cat No. 751120 – 20 tests

Immunchromatographischer Schnelltest für den Nachweis von Rotavirus und Adenovirus Antigen 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-oralen 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 fortdauernden 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 Drehnachweis von Rotavirusantigenen im Stuhl. Er ist hoch sensitiv und spezifisch.

Rotavirus wird als der häufigste Durchfall-Erreger der Welt beschrieben. In den Drittweltländern 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 viraler Antigenpartikel in menschlichen Stuhlproben die häufigste diagnostische Methode. Der *Rapid Strip Rota-Adeno* Test ist ein 5 Minuten-Immunoassay auf Lateralfilm-Basis zum Nachweis von Rota- und Adenovirusantigenen.

BIOLOGISCHES PRINZIP

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

- 1) Mit rotem Latexpartikel konjugierte, monoklonale Antikörper gegen das VP6 Antigen der Gruppe A Rotaviren und spezifisch gegen Rotaviren gerichtete Fesphasenanatikörper.
- 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 Fesphasenanatikörper.

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. 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.

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.

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.

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.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

Sensibilidad

A partir de multitud de ensayos con varios observadores en diferentes condiciones y con lotes distintos hemos establecido una sensibilidad típica de 8 ng/ml para rotavirus y 4 ng/ml para adenovirus a los 10 min.

A partir de muestras de heces enviadas regularmente al Departamento de Microbiología (sección virología) del Hospital Clínico Universitario de Valladolid para su análisis (principalmente muestras de pacientes pediátricos) se ha evaluado la utilidad diagnóstica del nuevo test Simple Rota/Adeno.

Rotavirus: se establece una comparación frente al mejor de los sistemas empleados en el análisis, que es el ELISA Ridascreen. Adenovirus: se establece una comparación frente al conjunto de los sistemas empleados en el análisis: se considerarían positivas aquellas muestras que han sido detectadas como positivas por al menos 2 de los tests empleados para la detección del adenovirus.

Los resultados se resumen en las siguientes tablas:

Rotavirus-102 muestras		Rota-Adeno Meridian		Adenovirus-102 muestras		Rota-Adeno Meridian	
		+				+	
ELISA	12	0		6	0		
Rida screen	-	2	88	-	0	96	
		Sensibilidad >99%				Sensibilidad >99%	
		Especificidad 97,80%				Especificidad >99%	
		Valor predictivo positivo 85,70%				Valor predictivo positivo >99%	
		Valor predictivo negativo >99%				Valor predictivo negativo >99%	

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 fliessen, 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. Transfer-Pipeten
6. Stopp-Uhr

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Alle Reagentien sind nur zur *in vitro* Diagnostik bestimmt.
2. Der Testkit darf nur bis zum angegebenen Verfalldatum verwendet werden.
3. Reagentien 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). Kälte Reagentien 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 repräsentativen 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 ausgeschleuderten 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 Suspension 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 µl 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. Ergebnisse nicht eher als 5 Minuten aber nicht später als 10 Minuten in der weissen Zone ablesen.

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 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 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.

QUALITÄTSKONTROLLE

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

LEISTUNGSMERKMALE

Nachdem viele Testungen durch verschiedene Personen unter verschiedenen Konditionen mit verschiedenen Chargen durchgeführt und abgelesen wurden, konnten wir eine typische Sensitivität nach 10 Minuten von 8ng/ml für Rotavirus und 4ng/ml für Adenovirus etablieren. Die diagnostische Leistungsfähigkeit für dieses Produkt wurde evaluiert mit Stuhlproben, die von dem Microbiology Department (virologische Abteilung) des Valladoild Clinico Universitario Hospital (vorwiegend Stuhlproben von Kindern) stammen.

Rotavirus: Vergleich gegen das Analysesystem: ELISA Ridascreen
 Adenovirus: Vergleich gegen verschiedene Analysesysteme; als positive Proben werden Stühle angesehen, die in mindestens zwei der eingesetzten Testsysteme positiv waren.

Folgende Ergebnisse wurden erhalten:

Rotavirus-102 Proben Streifen		Rotavirus-102 Diagnostik	Proben Meridian
ELISA	+	+	6
Rida	-	-	0
screen	2	0	96
Sensitivität	>99%	Sensitivität	>99%
Spezifität	97,80%	Spezifität	>99%
Pos. Prädiktiver Wert	85,70%	Pos. Prädiktiver Wert	>99%
Neg. prädiktiver Wert	>99%	Neg. prädiktiver Wert	>99%

REFERENCES / BIBLIOGRAPHIE / BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAFIA / 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



Expiry date / Date de péremption/ Scadenza/ Fecha de caducidad/ Halbtbarkeitsdatum



Lot number / Numéro de lot/ Numero di lotto/ Número de lote / Chargenbezeichnung



For in vitro diagnostic use / Usage in vitro/ Per uso diagnostico in vitro Uso diagnostico in vitro / in vitro Diagnosticum



This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro/ Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro/ Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro/ Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG



Catalogue number / Référence article/Codice dell'articolo/ Número de catálogo / Artikelnummer



Please read pack insert / Lire attentivement le mode d'emploi / Leggere il foglietto informativo/ Leer instrucciones de uso / Bitte Packungsbeilage beachten



Manufactured by / Fabriqué par/ Prodotto da / Fabricado por / Hergestellt von



Contains sufficient for <n> tests / Contenu suffisant pour <n> tests/ Contenu sufficiente per <n> prove/ Contenido suficiente para <n> ensayos / Enthält genügendes für <n> Tests



Conservare al Store at / Conserver à/ Conservar al/ Lagening bei