

immunocard STAT![®]

Rotavirus

A RAPID IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF ROTAVIRUS ANTIGEN IN HUMAN STOOL

REF 750030

IVD

R_x Only

INTENDED USE

The Immunocard STAT! Rotavirus Immunoassay is a rapid in vitro qualitative procedure for the detection of rotavirus antigen in human stool. The test can be used to aid in the diagnosis of rotavirus associated gastroenteritis.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Rotavirus is a major cause of acute gastroenteritis, especially in children 6 to 24 months in age.^{1,3} In addition, rotavirus infections can produce severe illness as well as asymptomatic infection in adults.^{1,2,4,5} The incubation period of rotavirus infection is usually one to three days, followed by gastroenteritis with an average duration of five to eight days. Virus titers in stool reach a maximum shortly after the onset of illness, then decline.^{2,6,7} Due to inadequacies in existing culture methods, human rotavirus is not routinely isolated from rotavirus-containing specimens.^{2,8} For many years, electron microscopy has been the standard method for rotavirus detection. However, newly introduced enzyme immunoassays and latex agglutination assays with increased sensitivities and specificities are now the methods of choice.^{5,15} The Immunocard STAT! Rotavirus test offers a simple, rapid method for detecting rotavirus antigen in patient stool.

BIOLOGICAL PRINCIPLES

The Immunocard STAT! Rotavirus assay detects the presence of rotavirus antigen in stool. Patient specimen is diluted 1:15 in Sample Diluent. The suspension is mixed and 150 µL is added to the sample port of the device. The sample mobilizes gold particles coated with monoclonal antibody to rotavirus and migrates along the membrane through the **Test** (polyclonal anti-rotavirus antibody) and **Control** zones. After ten minutes, the **Test** and **Control** zones are observed for the presence of red/purple lines across the membrane surface. If rotavirus is present in the sample, a complex is formed between the capture antibody and the monoclonal antibody-gold conjugate which can be seen visually as a red/purple line in the **Test** zone. No red/purple line in the **Test** zone indicates a negative result. The **Control** line serves as a procedural control to assure that the sample has migrated the appropriate distance along the membrane.

REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

The maximum number of tests obtained from this kit is listed on the outer box.

1. **Immunocard STAT! Rotavirus Devices** - Individually foil pouched devices containing immobilized rabbit anti-rotavirus antibody (**Test** zone), goat anti-mouse IgG antibody (**Control** zone) and embedded monoclonal antibody to rotavirus VP-6 conjugated to gold particles.
2. **Positive Control** - Inactivated rotavirus (SA-11) in a buffer containing 0.02% thimerosal as a preservative.
3. **Sample Diluent** - Buffer containing 0.1% sodium azide as a preservative.
4. **Transfer Pipettes**

MATERIALS NOT PROVIDED

1. 12 x 75 mm test tubes
2. Applicator sticks (recommended for solid stools)
3. Timer

PRECAUTIONS

1. All reagents are for in vitro diagnostic use only.
2. Reagent concentration, incubation times and temperatures (21-25 C) have been optimized for sensitivity and specificity. Best results are obtained by adhering to these specifications. Once the assay has been started, complete all subsequent steps without interruption.
3. Patient specimens and used Immunocard STAT! Rotavirus devices may contain infectious agents and should be handled at Biosafety Level 2 as recommended in the CDC/NIH manual "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories".
4. Positive Control reagent contains inactivated rotavirus. However, it should be handled as a potential biohazard.
5. All reagents should be gently mixed and at 21-25 C before use.
6. Do not interchange reagents from different kit lot numbers, or use expired reagents.
7. Hold Positive Control vial vertically to insure proper drop size and delivery. Do not allow the tips of the vial or pipette to touch the sample port.
8. Use only one transfer pipette per control or specimen. Discard after use. Do not attempt to reuse.
9. Stool must be mixed thoroughly (regardless of consistency) to insure a representative sample prior to pipetting. Do not use stools that have dried out.
10. Dilution of stool as described under **Sample Dilution** is important. Over-inoculation of stool into the Sample Diluent may restrict movement within the Immunocard STAT! Rotavirus device so as to produce an invalid result.

WARNING: Some reagents in this kit contain sodium azide, which is a skin irritant. Avoid skin contact with reagents. Disposal of reagents containing sodium azide into lead or copper plumbing can result in the formation of explosive metal azides. This can be avoided by flushing with a large volume of water during such disposal.

HAZARD and PRECAUTIONARY STATEMENTS

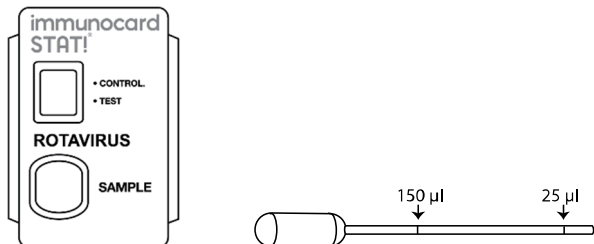
There are no known hazards associated with this product.

SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. Store the kit at 2-8 C.

PROCEDURAL NOTES

1. The Immunocard STAT! Rotavirus format is diagrammed below.



2. Batch processing of samples or controls is possible provided correct incubation time is maintained for each device.
3. The **Control** zone of each device is a procedural control to assure that the sample has migrated sufficiently in the device to permit a valid test result to be read.

REAGENT PREPARATION

1. All reagents come ready to use (no further dilution is required).
2. Allow kit components to reach 21-25 C prior to use.
3. Gently mix liquid reagents prior to use.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

For the best results, specimens should be collected after onset of symptoms. Several authors have reported declining numbers of rotavirus particles after day eight or nine, with peak counts occurring on days three through five. Samples collected after day eight or nine may be less reactive than those collected earlier in the course of the disease.^{2,6,7} Specimens containing high levels of blood may fail to flow in the Immunocard STAT! Rotavirus device, resulting in an invalid test result. Testing of an additional specimen is recommended under such circumstances.

Stool specimens may be collected by the method routinely utilized by the laboratory, providing no dilution of the specimen occurs. A sample may be collected into a clean, dry container free of detergent residue, or obtained from a diaper.

The specimen should be tested as soon as possible, but may be stored up to 72 hours at 2-8 C prior to testing. If testing cannot be performed within this time frame, specimen should be frozen in a non-defrosting freezer (-20 C or lower).

TEST PROCEDURE

Note: All components must be 21-25 C prior to use.

1. Sample Dilution
 - a. Add 350 µL Sample Diluent to one 12 x 75 mm test tube for each specimen to be tested.
 - b. Mix stool thoroughly, regardless of consistency.
 - c. Liquid or semi-solid stool: Using a transfer pipette, draw stool to the 25 µL calibration point (first mark from tip of the pipette). Dispense the stool into the Sample Diluent in appropriate 12 x 75 mm tube. Using the same pipette, gently withdraw and expel the stool suspension several times, then vortex ten seconds. Leave transfer pipette in tube for further use. **Note:** Do not pipette more than 25 µL of stool. Over-inoculation with stool may produce invalid results. Proceed to Step 2 within 30 minutes.
 - d. Solid stool (nonpipetable stool from a diaper): Using a wooden applicator stick, transfer a 2 mm diameter portion of stool into the Sample Diluent in the appropriate 12 x 75 mm tube. Emulsify the stool thoroughly using the applicator stick, then vortex ten seconds. Place transfer pipette in the tube. Proceed to Step 2 within 30 minutes.

2. Remove appropriate number of Immunocard STAT! Rotavirus devices from their pouches. Label appropriately. Use one device per control or sample.
3. Vortex each diluted specimen for ten seconds. Using the original specimen transfer pipette, draw diluted sample to the 150 µL calibration point (second mark from tip of the pipette) and add to **Sample** port.
4. Incubate ten minutes at 21-25 C. **NOTE:** During the ten minute incubation, diluted specimen must move past the **Control** zone.
5. Visually read **Control** and **Test** zones for the presence or absence of a red/purple line at the end of the incubation period.

INTERPRETATION OF RESULTS

Positive Test Result: Visually detectable red/purple **Test** and **Control** lines. A positive result indicates the presence of rotavirus antigen.¹

Negative Test Results: Visually detectable red/purple **Control** line. No red/purple **Test** line present. A negative result indicates that rotavirus antigen is absent or below the level of detection.

Invalid Test Result: No visually detectable red/purple **Control** line, with or without a visually detectable red/purple **Test** line.²

¹Levels of the detection and capture antibodies were adjusted to achieve performance equivalence with the Premier Rotaclone EIA.

²Invalid test results may be due to a Reagent/Device problem, a procedural error, or over-inoculation of stool into Sample Diluent during specimen dilution. Re-dilute stool and repeat test. Stools containing high levels of blood may fail to flow properly, resulting in an invalid result. Testing with an additional specimen is recommended. On occasion, a stool may have very high levels of rotavirus antigen and will yield a visible **Test** line and no visible **Control** line. In such cases, the specimen may be diluted twofold or greater, beyond original 1:15 dilution (ex. 25 µL stool + 750 µL Sample Diluent) and retested.

QUALITY CONTROL

This test should be performed per applicable local, state or federal regulations or accrediting agencies.

The positive and negative controls should be assayed with each new kit lot or new shipment. Thereafter, Meridian recommends that the procedural control, performed with each test, is sufficient to verify reagent integrity and assay performance. The Negative and Positive Controls are intended to monitor for reagent failure, but will not ensure precision at the analytical assay cut-off. Additional controls may be tested in accordance with guidelines or requirements of local, state, and/or federal regulations and accrediting organizations.

Add three drops of Positive Control or, using a transfer pipette, add 150 µL Sample Diluent (Negative Control) directly to **Sample** port of appropriate device (do not dilute Positive Control).

1. The Positive Control should yield visually detectable red/purple **Test** and **Control** lines.
2. The Negative Control should yield a visually detectable red/purple **Control** line. No **Test** line should be present.

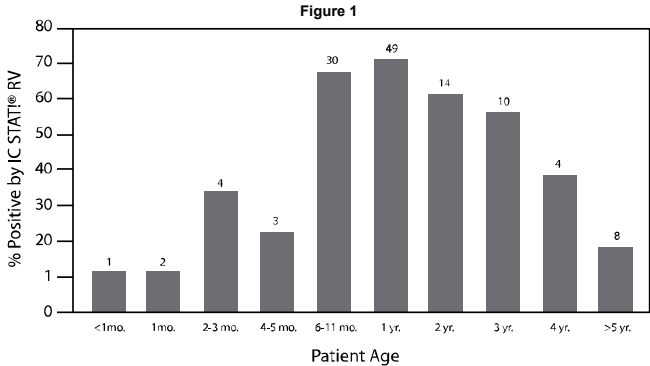
If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact Meridian's Technical Services Department at 1-800-343-3858 (US) or your local distributor.

EXPECTED VALUES

The Immunocard STAT! Rotavirus test detects the presence of rotavirus antigen in stool. Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The rate of positivity may vary depending on patient age, geographic location, season, method of specimen collection, handling and transportation, and a general health environment of the patient population under study.^{2, 16}

It has been reported that in neonates, when rotavirus was present, the disease was mild or totally asymptomatic.^{2, 6, 17} However, during cooler months, rotavirus may account for approximately 50% or more of the gastroenteritis found in hospitalized children.^{3, 16} In adults, the incidence of serious gastroenteritis caused by the virus is relatively low and when infected, adults tend to be asymptomatic.^{2, 4} Studies from nursing homes and hospital geriatric wards show that this population is at an increased risk and susceptible to rotavirus associated disease.^{2, 17}

Clinical studies with Immunocard STAT! Rotavirus conducted at three different hospitals (two Children's Hospitals, Midwest and West Coast, and one General Hospital, East Coast) examined the incidence of rotavirus in different age groups (Figure 1). Values over the frequency bars indicate the number of Immunocard STAT! Rotavirus positive specimens.



LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. The Immunocard STAT! Rotavirus test does not define the presence of rotavirus associated gastroenteritis, but only demonstrates the presence of the antigen in stool. As with all *in vitro* diagnostic procedures, test results should be interpreted by a physician in conjunction with other clinical information.
2. Limit of detection in stool specimens is 1.8-3.7x10⁶ rotavirus particles (SA-11) per test volume.
3. The use of meconium stools in this assay is not recommended as their performance characteristics have not been evaluated.
4. A positive result does not preclude the presence of other infective organisms.

SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The Immunocard STAT! Rotavirus test was evaluated on stools from pediatric patients submitted for rotavirus testing at three sites. All specimens were tested by Immunocard STAT! Rotavirus, a competitor's flow-through membrane EIA, Premier Rotaclone® microwell EIA and electron microscopy (EM). In the table below, test results are compared to electron microscopy.¹⁸

Comparison of Immunocard STAT! Rotavirus, Competitor's Membrane EIA and Premier Rotaclone® EIA to Electron Microscopy Results for Rotavirus (n=249)

Electron Microscopy Results	Immunocard STAT! Results		Competitor's Membrane EIA Results		Premier Rotaclone® Results	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Pos	121	9	122	8	122	8
Neg	5	115	11	109	7	113
Performance Statistic	Value	± 95% Conf.	Value	± 95% Conf.	Value	± 95% Conf.
Sensitivity	93.1%	4.4%	93.8%	4.1%	93.8%	4.1%
Specificity	95.8%	3.6%	90.8%	5.2%	94.2%	4.2%
Predictive Value Pos.	96.0%	3.4%	91.7%	4.7%	94.6%	3.9%
Predictive Value Neg.	92.7%	4.6%	93.2%	4.6%	93.4%	4.4%
Correlation	94.4%	2.9%	92.4%	3.3%	94.0%	2.9%

All five of the Immunocard STAT! Rotavirus positive, electron microscopy negative specimens were positive by Premier Rotaclone® and the competitor's membrane EIA. Six of nine Immunocard STAT! Rotavirus negative, electron microscopy positive specimens were negative by all three immunoassays. Furthermore, quantitative estimates by the electron microscopist indicated that eight of these specimens had few rotavirus particles.

Immunocard STAT! Rotavirus Compared to Premier Rotaclone® Results (n=250)

Immunocard STAT! Results	Premier Rotaclone® Results	
	Positive	Negative
Positive	126	0
Negative	3	122
Statistic	Value	± 95% Conf.
Relative Sensitivity	97.7%	2.6%
Relative Specificity	100.0%	0.0%
Relative Correlation	98.8%	1.3%

Two of three Immunocard STAT! Rotavirus negative, Premier Rotaclone® positive specimens were negative by electron microscopy. One of the three was electron microscopy positive.

ASSAY SPECIFICITY

The Immunocard STAT! Rotavirus test was evaluated for specificity using the reference bacterial and viral strains listed below. A stool positive for rotavirus and a stool negative for rotavirus were spiked with bacteria ($\geq 6 \times 10^8$ cfu/mL stool) or viruses ($\geq 1 \times 10^{2.7}$ TCID₅₀/mL).

Microorganism or Virus (# strains tested)

<i>Aeromonas hydrophilia</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (O157:H7) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<i>Bacillus cereus</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (non-O157:H7, SLT+) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan 1) (1)
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	<i>Helicobacter pylori</i> (1)	<i>Streptococcus faecalis</i> (1)
<i>Bacteroides fragilis</i> (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Vibrio cholerae</i> (1)
<i>Campylobacter coli</i> (1)	<i>Proteus mirabilis</i> (1)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)
<i>Campylobacter fetus</i> (1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Adenovirus, types 2, 40, 41
<i>Campylobacter jejuni</i> (1)	<i>Salmonella</i> (1)	Coronavirus
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	Coxsackie types A9, B1, B6
<i>Clostridium difficile</i> (1)	<i>Shigella dysenteriae</i> (1)	Echovirus, types 22, 32
<i>Clostridium sordellii</i> (1)	<i>Shigella flexneri</i> (1)	Enterovirus, type 69
<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)	<i>Shigella sonnei</i> (1)	Poliovirus, type 1
<i>Escherichia coli</i> (1)		

All organisms were found to be negative when spiked into the negative stool. In addition, they did not interfere with either the positive specimen or the procedural control.

Studies with different serotypes of group A rotavirus (the most common form) showed that the Immunocard STAT! Rotavirus test detects serotypes 1, 2, 3, and 4. Reactivity with serotypes 8 and 9 has not been evaluated.

ASSAY PRECISION

Three physician office laboratories tested six specimens and the two controls, in triplicate, on each of three different days. The **Test** line of the Immunocard STAT! Rotavirus device showed 100% reproducibility with negative and medium positive stools, and 96% reproducibility on low positive stools. **Control** line reproducibility was 100% with all specimens.

immunocard STAT![®]

Rotavirus

TEST RAPIDO IMMUNOLOGICO PER LA RICERCA DI ROTAVIRUS
IN CAMPIONI FECALI

REF 750030

IVD

Rx Only

FINALITÀ D'USO

Immunocard STAT! Rotavirus è un test immunologico rapido che consente la ricerca qualitativa *in vitro* dell'antigene di Rotavirus nei campioni di feci. I risultati di tale esame rappresentano un aiuto nella diagnostica della gastroenterite causata da Rotavirus.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

I Rotavirus rappresentano la principale causa di gastroenterite acuta nei bambini, soprattutto in quelli tra i sei mesi ed i due anni di età¹⁻³ ma possono infettare, in modo più o meno sintomatico, anche gli adulti.^{1,2,4,5} L'infezione è caratterizzata da un periodo di incubazione in genere della durata di 1-3 giorni, seguito dalla fase sintomatica della gastroenterite, che dura normalmente 5-8 giorni. Il livello di concentrazione di antigeni virali nelle feci raggiunge il massimo in corrispondenza dell'esordio della sintomatologia, per poi diminuire con il passare del tempo.^{2,6,7} A causa dell'ineguaglianza dei metodi colturali, i Rotavirus umani non vengono isolati in coltura a partire dai campioni biologici.^{2,8} Per molti anni la microscopia elettronica ha rappresentato il metodo di riferimento per la ricerca di questi virus. I tests di agglutinazione al lattice ed EIA recentemente introdotti, con la loro maggiore sensibilità e specificità, rappresentano attualmente le tecniche di prima scelta per la diagnosi dell'infezione da Rotavirus.⁹⁻¹⁵ Immunocard STAT! Rotavirus è un metododo semplice e rapido per la ricerca dell'antigene di Rotavirus nei campioni di feci.

PRINCIPI BIOLOGICI

Immunocard STAT! Rotavirus identifica la presenza di rotavirus in campione fecale. Il campione viene diluito 1:15 nel Diluente del campione. La sospensione è mescolata e 150 µL vengono aggiunti al pozzetto del test. Il campione mobilizza particelle d'oro coattate con anticorpo monoclonale anti Rotavirus e migra lungo la membrana attraverso la zona **Test** (anticorpi policlonali anti-Rotavirus) e **Control**. Dopo 10 minuti viene osservata la presenza di bande rosso/porpora. Se Rotavirus è presente nel campione si formerà un complesso tra anticorpo di cattura e anticorpo monoclonale coniugato con le particelle d'oro. Tale complesso può essere visualizzato come una banda rosso/porpora nella zona **Test**. Un risultato negativo non presenta bande nella suddetta zona. La banda che deve essere sempre presente nella zona **Control** serve come controllo procedurale.

REAGENTI/MATERIALI FORNITI

Il numero massimo di analisi eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

1. **Immunocard STAT! Rotavirus** – Card confezionate singolarmente contenenti anticorpi immobilizzati di coniglio anti-Rotavirus nella zona **Test**, anticorpi IgG di capra anti-IgG di topo zona **Control** e anticorpo monoclonale anti-Rotavirus VP-6 coniugato con particelle d'oro.
2. **Controllo Positivo** – Rotavirus inattivati (SA-11), diluiti in soluzione tampone contiene thimerosal allo 0,02%.
3. **Diluente del campione** – Soluzione tampone contiene sodio azide allo 0,1%.
4. **Pipette monouso**

MATERIALI NON FORNITI

1. Provette (12 x 75 mm)
2. Bastoncini di legno (consigliati per le feci solide)
3. Timer

PRECAUZIONI

1. Tutti i reagenti sono esclusivamente per uso diagnostico in vitro.
2. La concentrazione dei reagenti, i tempi e la temperatura di incubazione (21-25 C) sono stati ottimizzati per ottenere la massima sensibilità e specificità. Pertanto i risultati migliori vengono raggiunti seguendo scrupolosamente la procedura. Una volta iniziato il test, bisogna completare tutti i passaggi successivi senza interruzioni.
3. I campioni dei pazienti e le card usate possono contenere agenti infettivi, pertanto dovrebbero essere trattati secondo le norme previste per il Biosafety Level 2 citato nel manuale "Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories" a cura del Centers for Disease Control/National Institute of Health.
4. Il Controllo Positivo contiene Rotavirus inattivati. Tuttavia dovrebbe essere maneggiato come materiale potenzialmente infettivo.
5. Tutti i reagenti dovrebbero essere delicatamente mescolati ed portati a temperatura ambiente (21-25 C) prima dell'uso.
6. Non scambiare reagenti appartenenti a lotti differenti né utilizzare reagenti scaduti.
7. Tenere i flaconcini e le pipette in posizione verticale per assicurare l'erogazione dell'esatta quantità di reagenti e di campione. Evitare di toccare con il tappo gocciolatore dei flaconi o con le pipette sia i campioni sia la membrana dei pozzetti di reazione.
8. Utilizzare una sola pipetta per ciascun campione. NON RIUTILIZZARE LE PIPETTE.
9. Le feci devono essere mescolate molto bene (indipendentemente dalla consistenza) per assicurare il prelievo di un campione rappresentativo. Non usare feci essiccate.
10. E' estremamente importante diluire le feci, secondo la tecnica descritta nella sezione **Preparazione dei campioni**. Un inoculo di feci troppo abbondante può impedire la corretta migrazione del campione lungo la membrana, determinando un risultato non valido; anche un inoculo scarso può causare risultati non attendibili.

ATTENZIONE: Alcuni reagenti contenuti in questo kit contengono sodio azide che è un composto irritante per la pelle. Evitare il contatto con la cute. L'eliminazione dei reagenti contenenti sodio azide nelle tubazioni di scarico contenenti piombo o rame può provocare la formazione di azidi metalliche esplosive. Tale pericolo può essere evitato lasciando scorrere notevoli quantità di acqua durante tale operazione.

DICHIARAZIONI DI PERICOLO E PRUDENZA

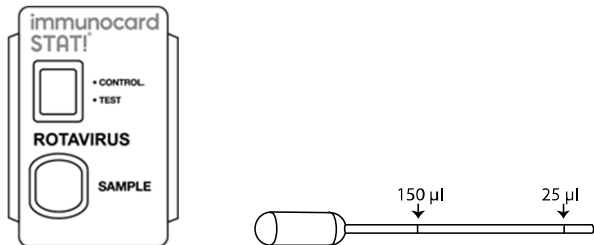
Per le nostre attuali conoscenze, non ci sono rischi associati a questo prodotto.

STABILITÀ E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è indicata sull'etichetta esterna. Conservare il kit a 2-8 C.

NOTE PROCEDURALI

1. Le Card del kit Immunocard STAT! Rotavirus sono rappresentate nella figura sottostante.



2. Si possono eseguire più test contemporaneamente, avendo l'accortezza di completare ciascun passaggio procedurale per tutti i campioni prima di passare a quello successivo e di rispettare gli esatti tempi di incubazione.
3. La zona **Control** di ciascuna card fornisce un controllo procedurale per ciascun campione. Tale controllo permette di verificare la corretta migrazione dei campioni e dei reagenti lungo la membrana, nonché l'adeguato funzionamento dei reagenti.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI

1. Tutti i reagenti sono pronti all'uso, per cui non è necessaria alcuna diluizione.
2. Lasciare che tutti i reagenti e le cards da usare raggiungano temperatura ambiente (21-25 C) prima dell'uso.
3. Mescolare delicatamente i reagenti liquidi prima dell'uso.

RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Al fine di ottenere risultati accurati, i campioni dovrebbero essere prelevati immediatamente dopo l'insorgenza dei sintomi. Diversi autori hanno segnalato una diminuzione del livello di Rotavirus a partire dall'ottavo-nono giorno, mentre il picco massimo si verifica attorno al terzo-quinto giorno. I campioni raccolti dopo l'ottavo-nono giorno possono risultare meno reattivi rispetto a quelli raccolti nelle fasi precedenti della malattia.^{2,6,7} Il campione che contiene grandi quantità di sangue può dare un risultato non valido: in questi casi è necessario testare un nuovo campione.

Il materiale fecale può essere raccolto utilizzando metodi standard, sempre che non si verifichino diluizioni del campione. Per la raccolta si può utilizzare un contenitore pulito, asciutto e privo di residui di detersivo oppure il materiale può essere prelevato direttamente dal pannolino.

Il campione dovrebbe essere esaminato al più presto, ma può essere conservato in frigorifero (2-8 C) fino a 72 ore. Se il test non può essere eseguito in questo lasso di tempo, il campione dovrebbe essere conservato in congelatore (senza sbrinamento automatico) a -20 C o a temperature inferiori.

PROCEDURA DEL TEST

Nota: tutti i componenti del kit devono essere portati a 21-25 C prima dell'uso.

- Preparazione dei campioni:
 - Distribuire 350 µL di Diluente del campione nelle provette.
 - Mescolare molto bene le feci prima di prelevare il campione, in base alla loro consistenza.
 - Feci liquide o semi-solidi: utilizzando una delle pipette monouso fornite, prelevare le feci fino alla tacca calibrata dei 25 µL (prima tacca a partire dalla punta della pipetta). Pipettare le feci nel diluente. Utilizzando la stessa pipetta, mescolare bene il campione mediante ripetuti cicli di aspirazione ed espulsione del materiale e poi passare al vortex per 10 secondi. Lasciare la pipetta nella provetta per un utilizzo successivo. Procedere con il passaggio 2 entro 30 minuti. **Nota:** non pipettare più di 25 µL di feci, poiché un inoculo troppo abbondante può causare risultati non validi.
 - Si possono utilizzare anche feci solide, raccogliendole direttamente mediante un bastoncino di legno; prelevare una piccola porzione di feci (2 mm di diametro) e trasferirla nella provetta contenente il diluente. Omogeneizzare bene usando il bastoncino e passando al vortex per 10 secondi. Mettere una pipetta nella provetta per l'utilizzo successivo. Procedere con il passaggio 2 entro 30 minuti.
- Estrarre il numero di card necessarie dalle rispettive buste sigillate. Contrassegnare ciascuna card in modo appropriato; utilizzare una sola card per ciascun controllo o campione da esaminare. Le card vanno mantenute in posizione orizzontale durante l'esecuzione del test.
- Mescolare ciascun campione diluito passandolo per 10 secondi al vortex. Usando la pipetta, distribuire 150 µL (seconda tacca) nel pozzetto **Sample**.
- Incubare 10 min. a 21-25 C. **NOTA:** durante questo periodo il campione deve migrare lungo la membrana verso la zona **Control**.
- Leggere visivamente la presenza di bande rosso/porpora nella zona **Control** e **Test**.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Risultato Positivo: Banda rosso/porpora nella zona **Test** e **Control**. Un risultato positivo indica la presenza di antigene di Rotavirus¹.

Risultato Negativo: Banda rosso/porpora nella zona **Control**. Non è presente alcuna banda rosso/porpora nella zona **Test**. Un risultato negativo indica che l'antigene di Rotavirus è assente o al di sotto del limite di rilevazione del metodo.

Risultato Non Valido: Non si evidenzia banda rosso/porpora nella zona **Control** indipendentemente dalla presenza o assenza di banda nella zona **Test**².

¹I livelli di identificazione e l'anticorpo di cattura sono stati aggiustati in modo da ottenere caratteristiche di accuratezza equivalenti a quelle del test Premier Rotacalone.

²Risultati non validi possono essere causati da problemi dei reagenti o delle card, da errori procedurali, da un eccessivo inoculo di campione fecale nel Diluente. In questo caso il campione deve essere nuovamente diluito e il test deve essere ripetuto. Feci contenenti abbondante sangue possono non migrare correttamente lungo la membrana dando risultati non validi. E' necessario testare un nuovo campione. In rari casi, feci contenenti alti livelli antigenici di Rotavirus possono dare una banda rosso/porpora nella zona **Test**, ma non nella zona **Control**. In questi casi il campione può essere ulteriormente diluito con diluizione 1:15 o maggiore (esempio: 25 µL di feci + 750 µL di Diluente del campione) e ritestato.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Il test va eseguito conformemente ai requisiti stabiliti dai competenti enti locali, regionali, nazionali o dagli enti di accreditamento.

I Controlli Positivi e Negativi dovrebbero essere analizzati con ogni nuovo lotto a con ogni nuova spedizione del kit. Il Controllo Positivo e Negativo consentono di verificare un'eventuale degradazione dei reagenti ma non danno indicazioni sul cut-off del test. Ulteriori controlli possono essere testati in accordo alle regolamentazioni locali.

Il Controllo Positivo viene testato aggiungendo direttamente 3 gocce al pozzetto **Sample** (non diluire il Controllo positivo). Il Controllo Negativo viene testato aggiungendo 150 µL di Diluente del campione al pozzetto **Sample**.

- Controllo Positivo: si deve notare visivamente lo sviluppo di una banda rosso/porpora in entrambe le zone **Test** e **Control**.
- Controllo Negativo: si deve notare visivamente lo sviluppo di una banda rosso/porpora solo nella zona **Control**. Non devono comparire bande nella zona nella zona **Test**.

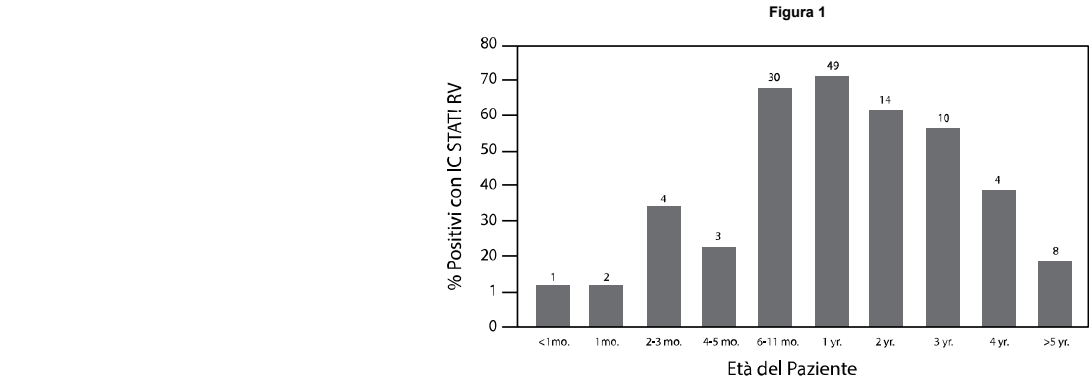
Se non si ottengono i risultati attesi con i Controlli, come prima opzione per identificare la causa del fallimento ripetere i test di controllo. Se il fallimento dei test di controllo dovesse ripetersi, contattare il Servizio di Assistenza tecnica Meridian (negli USA 001-800-343-3858) o il Distributore Locale, (Italia +390331433636).

VALORI ATTESI

Il test Immunocard STAT! Rotavirus identifica la presenza di Rotavirus nel campione fecale. I valori attesi per una data popolazione dovrebbero essere determinati in ogni laboratorio. La percentuale di positività può variare in base all'età del paziente, alla localizzazione geografica, alla stagione, al metodo di raccolta e trasporto del campione e allo stato di salute generale della popolazione studiata.^{2, 16}

In alcuni studi è stato riportato che nei neonati quando Rotavirus è presente la malattia può essere lieve o totalmente asintomatica.^{2, 6, 17} Comunque durante i mesi freddi, Rotavirus può essere responsabile di più del 50% delle gastroenteriti in bambini ospedalizzati.^{3, 18} Gli adulti infettati da Rotavirus generalmente non sviluppano gastroenteriti e l'infezione è spesso asintomatica.^{2, 4} Altri studi mostrano eseguiti in ospedali geriatrici mostrano che questa popolazione è a rischio per l'infezione da Rotavirus.^{2, 17}

Studi clinici condotti utilizzando il test Immunocard STAT! Rotavirus in tre diversi ospedali (due ospedali pediatrici nella regione occidentale e sulla costa occidentale e un ospedale sulla costa orientale) hanno permesso di valutare l'incidenza dell'infezione da Rotavirus in diversi gruppi di età (figura 1). I valori su ciascun istogramma indicano il numero di campioni positivi al test Immunocard STAT! Rotavirus.



LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

- Il test Immunocard STAT! Rotavirus rileva unicamente la presenza di antigeni di Rotavirus nei campioni di feci, ma non consente la diagnosi assoluta di gastroenterite causata da Rotavirus; i risultati ottenuti dovrebbero essere valutati dal medico curante, come per tutti gli altri test in vitro, alla luce del quadro clinico del paziente e del risultato di tutti gli altri esami eseguiti.
- Il limite di sensibilità del test nei campioni fecali è pari a 1.8-3.7x10⁶ particelle di Rotavirus (SA-11) per volume di campione utilizzato nel test.
- L'utilizzo di meconio non è raccomandato dato che non sono state valutate le caratteristiche di accuratezza del test con questo tipo di campione.
- Un risultato positivo non esclude la presenza di altre infezioni.

PRESTAZIONI SPECIFICHE

Il test Immunocard STAT! Rotavirus è stato valutato in tre diversi ospedali sulle feci di bambini inviate al laboratorio per la ricerca di Rotavirus. Tutti i campioni sono stati esaminati mediante il test Immunocard STAT! Rotavirus, un test EIA su membrana commerciale, il test Premier Rotacalone® EIA e microscopia elettronica. Nella tabella sottostante sono mostrati i risultati confrontati con quelli ottenuti con la microscopia elettronica.¹⁸

Confronto del test Immunocard STAT! Rotavirus con un test EIA su membrana commerciale, con il test Premier Rotacalone® EIA e con la microscopia elettronica (n=249)

Microscopia Elettronica	Immunocard STAT! Rotavirus		Test EIA su membrana		Premier Rotacalone®	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Pos	121	9	122	8	122	8
Neg	5	115	11	109	7	113
Valori Statistici	Valore	± 95% Conf.	Valore	± 95% Conf.	Valore	± 95% Conf.
Sensibilità	93.1%	4.4%	93.8%	4.1%	93.8%	4.1%
Specificità	95.8%	3.6%	90.8%	5.2%	94.2%	4.2%
Valore Predittivo Pos.	96.0%	3.4%	91.7%	4.7%	94.6%	3.9%
Valore Predittivo Neg.	92.7%	4.6%	93.2%	4.6%	93.4%	4.4%
Correlazione	94.4%	2.9%	92.4%	3.3%	94.0%	2.9%

Cinque campioni positivi al test Immunocard STAT! Rotavirus e negativi in microscopia elettronica sono risultati positivi al test Premier Rotacalone® e ad un test EIA su membrana commerciale. Sei su nove campioni negativi al test Immunocard STAT! Rotavirus e positivi in microscopia elettronica sono risultati negativi anche agli altri test. Inoltre 8 di questi campioni hanno mostrato poche particelle virali al microscopio elettronico.

Confronto del test Immunocard STAT! Rotavirus con il test Premier Rotacalone EIA (n=250)

Immunocard STAT! Rotavirus	Premier Rotacalone®	
	Positivo	Negativo
Positivo	126	0
Negativo	3	122
Valore Statistici	Valore	± 95% Conf.
Sensibilità Relativa	97.7%	2.6%
Specificità Relativa	100.0%	0.0%
Correlazione	98.8%	1.3%

Due su tre campioni negativi al test Immunocard STAT! Rotavirus e positivi al test Premier Rotacalone®, sono risultati negativi in microscopia elettronica. Uno dei tre campioni era positivo in microscopia elettronica.

SPECIFICITÀ DEL TEST

E' stata valutata la specificità del test Immunocard STAT! Rotavirus utilizzando i ceppi batterici e virus elencati nella lista sottostante. Un campione positivo e uno negativo per Roravirus sono stati inoculati con batteri (≥ 6x10⁸ ufc/mL di feci) o virus (≥ 1X10^{2.7} TCID₅₀/mL).

Batteri o Virus (numero di ceppi testati):

<i>Aeromonas hydrophilia</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (O157:H7) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<i>Bacillus cereus</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (non-O157:H7, SLT+) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan 1) (1)
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	<i>Helicobacter pylori</i> (1)	<i>Streptococcus faecalis</i> (1)
<i>Bacteroides fragilis</i> (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Vibrio cholerae</i> (1)
<i>Campylobacter coli</i> (1)	<i>Proteus mirabilis</i> (1)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)
<i>Campylobacter fetus</i> (1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Adenovirus, types 2, 40, 41
<i>Campylobacter jejuni</i> (1)	<i>Salmonella</i> (1)	Coronavirus
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	Coxsackie types A9, B1, B6
<i>Clostridium difficile</i> (1)	<i>Shigella dysenteriae</i> (1)	Echovirus, types 22, 32
<i>Clostridium sordellii</i> (1)	<i>Shigella flexneri</i> (1)	Enterovirus, type 69
<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)	<i>Shigella sonnei</i> (1)	Poliovirus, type 1
<i>Escherichia coli</i> (1)		

Tutti i microrganismi inoculati in campioni fecali negativi hanno dato un risultato negativo. Inoltre non hanno dato interferenze con i campioni positivi o il controllo procedurale.

Studi con diversi sierotipi di Rotavirus di gruppo A (gruppo più comune) hanno mostrato che il test Immunocard STAT! Rotavirus identifica i sierotipi 1, 2, 3 e 4. Non è stata valutata la reattività del test con i sierotipi 8 e 9.

PRECISIONE DEL TEST

In tre laboratori sono stati testati sei campioni e due controlli in triplicato in tre diverse sedute. La riproducibilità del **Test** Immunocard STAT! Rotavirus era del 100% per i campioni fecali negativi e positivi medi. La riproducibilità per i campioni bassi positivi era invece 96%. La riproducibilità a livello di **Controllo** interno era del 100% con tutti i campioni.

immunocard STAT![®] Rotavirus

Test immuno-chromatographique rapide pour la détection des antigènes de Rotavirus dans les selles humaines

REF 750030

IVD

Rx Only

BUT DE LA METHODE

Le test immuno-chromatographique rapide Immunocard STAT! Rotavirus est une procédure qualitative in vitro, pour la détection des antigènes de rotavirus dans les échantillons de selles humaines. Ce test peut être utilisé comme une aide au diagnostic des gastro-entérites associées au rotavirus.

RESUME ET EXPLICATION DU TEST

Le rotavirus est une cause majeure de gastro-entérites aiguës, en particulier chez les enfants âgés de 6 à 24 mois.¹⁻³ De plus, les infections à rotavirus peuvent entraîner une maladie grave ainsi que des infections asymptomatiques chez l'adulte.^{1, 2, 4, 5} La période d'incubation des infections à rotavirus est généralement de 1-3 jours, suivi d'une gastro-entérite d'une durée moyenne de 5-8 jours. Les titres de virus contenus dans les selles atteignent un maximum peu de temps après l'apparition de la maladie, puis diminuent.^{2, 6, 7} Les méthodes de culture existantes étant inadéquates, les rotavirus humains ne sont pas isolés en routine à partir d'échantillons contenant du rotavirus.^{2, 8} La microscopie électronique a été pendant de longues années la méthode standard pour la détection du rotavirus. Cependant, les tests immuno-enzymatiques et les tests d'agglutination au latex récemment introduits, avec une spécificité et une sensibilité accrues, sont maintenant des méthodes de choix.⁹⁻¹⁵ Le test Immunocard STAT! Rotavirus offre une méthode simple et rapide pour la détection des antigènes de rotavirus dans les selles de patients.

PRINCIPE DU TEST

Le test Immunocard STAT! Rotavirus détecte la présence des antigènes de rotavirus dans les selles. Les échantillons de patients sont dilués 1:15 dans le diluant échantillon. La suspension est mélangée et 150 µL sont ajoutés dans le puits échantillon du système. L'échantillon mobilise des particules d'or recouvertes d'un anticorps monoclonal dirigé contre le rotavirus, et va migrer le long de la membrane au travers de la zone **Test** (anticorps anti-rotavirus polyclonal) et de la zone **Contrôle**. Après 10 minutes, les zones **Test** et **Contrôle** sont observées pour détecter la présence de lignes rouges/violettes sur la surface de la membrane. Si le rotavirus est présent dans l'échantillon, un complexe se forme entre l'anticorps de capture et le conjugué anticorps monoclonal-or, qui peut être détecté visuellement par une ligne rouge/violette dans la zone **Test**. La ligne **Contrôle** sert de contrôle de la procédure afin de s'assurer que l'échantillon a migré la bonne distance le long de la membrane.

MATERIEL FOURNI

Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

1. **Cartes Immunocard STAT! Rotavirus.** Cartes sous sachet individuel contenant des anticorps anti-rotavirus de lapin immobilisés (zone **Test**), des anticorps IgG de chèvre anti-souris (zone **Contrôle**) et des anticorps monoclonaux dirigés contre le rotavirus VP-6 conjugués à des particules d'or, intégrés.
2. **Contrôle positif.** Rotavirus (SA-11) inactivé dans un tampon contenant 0,02% de thimérosal comme conservateur.
3. **Diluant pour échantillons.** Tampon contenant 0,1% d'azide de sodium comme conservateur.
4. **Pipettes de transfert.**

MATERIEL NON FOURNI

1. Tubes à essai (12 x 75 mm).
2. Bâtonnet d'application (recommandés pour les selles solides).
3. Minuteur.

PRECAUTIONS

1. Tous les réactifs sont pour un usage diagnostique in vitro.
2. Les concentrations des réactifs, les temps d'incubation et les températures (21-25 C) ont été déterminées pour optimiser la sensibilité et la spécificité. Les meilleurs résultats sont obtenus en respectant ces spécifications. Lorsque le dosage est lancé, effectuer toutes les étapes suivantes sans interruption.
3. Les échantillons de patients, le contrôle positif et les cartes de test usagées peuvent contenir des agents infectieux et doivent être manipulés avec précaution (Biosafety niveau 2, CDC/NIH manual «Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories»).
4. Le contrôle positif contient du rotavirus inactivé. Il doit cependant être manipulé comme un matériel potentiellement infectieux.
5. Tous les réactifs doivent être agités soigneusement et ramenés à 21-25 C avant utilisation.
6. Ne pas mélanger les réactifs de coffrets de lots différents et ne pas utiliser de réactifs périmés.
7. Tenir les flacons de réactifs et les pipettes de transfert verticalement pour assurer une bonne calibration des gouttes. Ne pas laisser l'extrémité du flacon ou de la pipette entrer en contact avec l'échantillon ou les fenêtres de réactions.
8. Utiliser une pipette de transfert par contrôle ou par échantillon. Jeter après emploi. Ne pas réutiliser.
9. Les selles doivent être mélangées soigneusement (quelle que soit la consistance) pour obtenir un échantillon représentatif avant de pipeter. Ne pas utiliser de selles desséchées.
10. Il est important de diluer les selles comme indiqué dans le paragraphe «**Dilution des échantillons**». L'introduction d'une quantité de selles trop importante dans le diluant échantillons peut restreindre le mouvement dans les cartes Immunocard STAT! Rotavirus et conduire à un résultat non-valide.

ATTENTION : Certains réactifs de ce coffret contiennent de l'azide de sodium qui est un irritant de la peau. Éviter tout contact avec la peau. L'élimination de réactifs contenant de l'azide de sodium dans des canalisations en cuivre ou en plomb peut provoquer la formation d'azides métalliques explosifs. Ceci peut être évité en rinçant à grande eau lors d'une telle élimination.

DANGER ET MISES EN GARDE

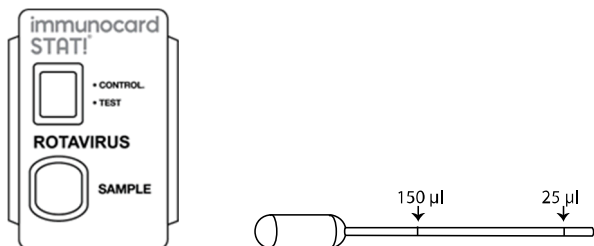
A notre connaissance, il n'y a pas de risque connu associé à ce produit.

DUREE DE CONSERVATION ET STOCKAGE

La date d'expiration est indiquée sur l'étiquette du coffret. Conserver le coffret entre 2 et 8 C.

REMARQUES SUR LA PROCEDURE

1. La carte Immunocard STAT ! Rotavirus se présente comme ci-dessous :



2. Il est possible de traiter plusieurs échantillons à la fois, à condition que les temps d'incubation soient respectés pour chaque carte de test.
3. La zone **Contrôle** de chaque carte fournit un contrôle interne de la méthode pour chaque échantillon. Ceci permet de vérifier que l'échantillon a suffisamment migré dans le système pour donner un résultat valide.

PREPARATION DES REACTIFS

1. Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi et ne requièrent aucune dilution.
2. Laisser tous les composants du coffret revenir à 21-25 C avant utilisation.
3. Mélanger doucement les réactifs liquides avant utilisation.

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Pour de meilleurs résultats, les échantillons doivent être recueillis après l'apparition des symptômes. De nombreux auteurs ont décrit une diminution du nombre de particules de rotavirus au 8^{ème} ou au 9^{ème} jour, avec un pic de comptage se produisant au 3^{ème} au 5^{ème} jour. Les échantillons recueillis après 8-9 jours peuvent être moins réactifs que ceux recueillis au cours de la maladie.^{2, 6, 7} Les échantillons contenant des taux importants de sang peuvent ne pas migrer à l'intérieur du système Immunocard STAT! Rotavirus, et conduire à un résultat de test non valide.

Les échantillons de selles peuvent être recueillis par la technique utilisée en routine dans le laboratoire, sachant que les échantillons ne doivent pas être dilués. Un échantillon peut être recueilli dans un récipient propre, sec, ne contenant pas de résidus de détergent ou obtenu à partir d'un linge.

Les échantillons doivent être testés aussitôt que possible, mais peuvent être conservés jusqu'à 72 heures à 2-8 C avant d'être testés. Si le test ne peut être réalisé dans cet intervalle de temps, les échantillons doivent être congelés dans un congélateur à une température ≤ -20 C. Ne pas utiliser de congélateur auto-dégivrant.

PROCEDURE DU TEST

Remarque: tous les réactifs doivent être à 21-25 C avant emploi.

- Dilution des échantillons:
 - Ajouter 350 µL de diluant échantillon dans un tube à essai pour chaque échantillon qui doit être testé.
 - Mélanger soigneusement les selles, quelle que soit la consistance.
 - Selles liquides ou semi-liquides: à l'aide d'une pipette de transfert, prélever la selle jusqu'au trait de jauge de 25 µL (premier repère à partir de l'extrémité de la pipette). Déposer la selle dans le tube à essai correspondant, contenant le diluant échantillon. En utilisant la même pipette, aspirer et refouler la suspension de selles plusieurs fois, puis vortexer 10 secondes. Laisser la pipette de transfert dans le tube pour une utilisation ultérieure. **Remarque:** ne pas pipeter plus de 25 µL de selles. Une saturation de selles peut produire des résultats non valides. Procéder à l'étape 2 dans les 30 minutes.
 - Selles solides non pipetables: en utilisant un bâtonnet d'application en bois, transférer une portion de 2 mm de diamètre dans le tube à essai correspondant, contenant le diluant échantillon. Emulsifier soigneusement la selle à l'aide du bâtonnet d'application, et vortexer 10 secondes. Mettre une pipette de transfert dans le tube. Procéder à l'étape 2 dans les 30 minutes.
- Sortir de leurs emballages le nombre de cartes Immunocard STAT! Rotavirus nécessaires. Les identifier de manière appropriée. Utiliser une carte pour chaque contrôle ou échantillon à tester.
- Vortexer chaque échantillon pendant 10 secondes. En utilisant la pipette de transfert d'origine, prélever l'échantillon dilué jusqu'au trait de calibration de 150 µL (deuxième repère à partir de l'extrémité de la pipette) et déposer dans le puits **Echantillon**.
- Incuber 10 minutes à 21-25 C. **REMARQUE :** pendant les 10 minutes d'incubation, l'échantillon dilué doit dépasser la zone **Contrôle**.
- A la fin de la période d'incubation, lire visuellement les zones **Test** et **Contrôle** afin de détecter la présence ou l'absence d'une ligne rouge/violette.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Résultat de test positif: lignes **Test** et **Contrôle** rouge/violette visuellement détectables. Un résultat positif indique la présence d'antigène de rotavirus¹.
Résultat de test négatif: ligne **Contrôle** rouge/violette visuellement détectable. Pas de ligne **Test** rouge/violette présente. Un résultat négatif indique l'absence d'antigène de rotavirus, ou un taux inférieur à la limite de détection.
Résultat de test non valide: pas de ligne **Contrôle** rouge/violette visuellement détectable avec ou sans ligne **Test** rouge/violette visuellement détectable².

¹Le taux de détection et les anticorps de capture ont été ajustés de façon à obtenir des performances équivalentes à celles du test Premier Rotaclone EIA.

²Les résultats de test non valides peuvent être dus à un problème de réactif ou de système, une erreur de procédure, ou une saturation des selles dans le diluant échantillon lors de la dilution des échantillons. Diluer les selles à nouveau et répéter le test. Les selles contenant un taux élevé de sang peuvent ne pas migrer correctement, et conduire à un résultat non valide. Un test avec un autre échantillon est recommandé. Occasionnellement, un échantillon de selles peut contenir des taux très élevés d'antigène de rotavirus et donner une ligne **Test** visible et pas de ligne **Contrôle** visible. Dans ce cas, l'échantillon doit être dilué par deux ou plus, en plus de la dilution 1:15 d'origine (par exemple: 25 µL de selle + 750 µL de diluant échantillon), et testé à nouveau.

CONTRÔLE DE QUALITE

Ce test doit être réalisé en fonction des exigences des réglementations locales et / ou nationales ou des directives des organismes d'accréditation.

Les contrôles positifs et négatifs doivent être testés à chaque nouveau lot de coffret livré ou à chaque nouvelle livraison. Par la suite, les recommandations de Meridian indiquent que le contrôle interne de procédure, réalisé lors de chaque test, est suffisant pour vérifier l'intégrité des réactifs et les performances du test. Les contrôles négatif et positif sont destinés à contrôler la qualité des réactifs mais ne permettent pas d'assurer la précision de la valeur seuil analytique de l'essai. Des contrôles additionnels peuvent être testés en accord avec les réglementations locale, nationale et/ou fédérale, ou d'organismes accrédités.

Ajouter 3 gouttes de contrôle positif ou, à l'aide d'une pipette de transfert, ajouter 150 µL de diluant échantillons (contrôle négatif) directement dans le puits échantillon de la carte appropriée (ne pas diluer le contrôle positif).

- Le contrôle positif doit montrer une ligne **Test** et une ligne **Contrôle** rouge/violette visuellement détectables.
- Le contrôle négatif doit montrer une ligne **Contrôle** rouge/violette visuellement détectable. Aucune ligne **Test** ne doit être présente.

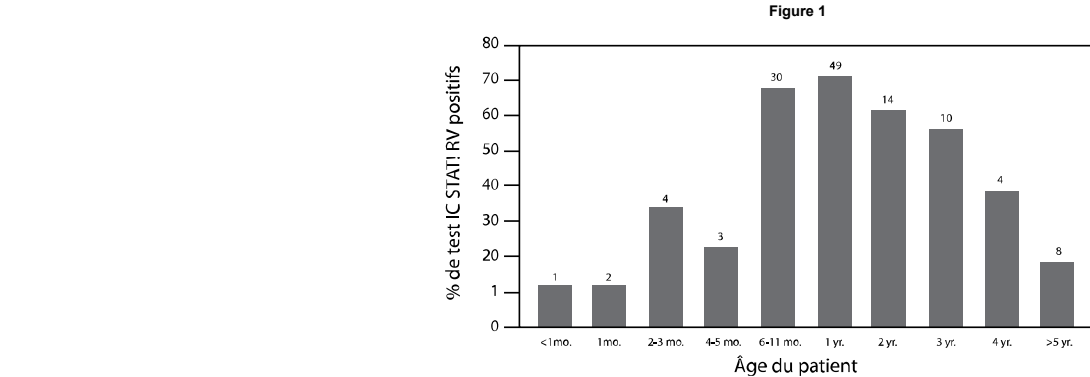
Si les réactions attendues ne sont pas observées, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle escomptés ne sont pas observés de façon répétée.

VALEURS ATTENDUES

Le test Immunocard STAT! Rotavirus détecte la présence d'antigènes de rotavirus dans les selles. Les valeurs attendues pour une population donnée doivent être déterminées pour chaque laboratoire. Le taux de positivité varie en fonction de l'âge des patients, de la localisation géographique, de la méthode de prélèvement, de la manipulation et du transport des échantillons, du test employé et de l'environnement sanitaire général de la population de patients étudiée.^{2, 16}

Il a été décrit chez les nouveaux-nés que la maladie est presque ou complètement asymptomatique lorsque le rotavirus était présent.^{2, 6, 17} Cependant, durant les mois froids, le rotavirus peut représenter 50% ou plus des gastro-entérites trouvées chez les enfants hospitalisés.^{3, 16} Chez les adultes, les gastro-entérites sévères causées par le rotavirus sont relativement faibles, et lorsqu'ils sont infectés les adultes sont plutôt asymptomatiques.^{2, 4} Des études réalisées dans des maisons de retraite et des services hospitaliers de gériatrie montrent que cette population présente un risque élevé et une prédisposition aux maladies associées au rotavirus.^{2, 17}

Des études cliniques sur le test Immunocard STAT! Rotavirus, réalisées dans trois hôpitaux différents (deux hôpitaux pour enfants de la côte Ouest et Centre Ouest des USA, et un hôpital général de la côte Est), ont examiné l'incidence du rotavirus dans différents groupes d'âge (figure 1). Les valeurs indiquées au-dessus des barres de fréquence indiquent le nombre d'échantillons positifs en Immunocard STAT! Rotavirus.



LIMITES DU TEST

- Le test Immunocard STAT! Rotavirus ne permet pas de définir la présence d'une gastro-entérite associée au rotavirus, mais permet seulement de démontrer la présence des antigènes dans les selles. Comme avec toutes les procédures de test *in vitro*, les résultats du test doivent être interprétés par un praticien, à la lumière des autres informations cliniques.
- La limite de détection dans les selles est de 1,8-3,7 x 10⁶ particules de rotavirus (SA-11) par volume de test.
- L'utilisation de selles de méconium n'est pas recommandée dans cet essai, car leurs performances n'ont pas été évaluées.
- Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres organismes infectieux.

PERFORMANCES DU TEST

Le test Immunocard STAT! Rotavirus a été évalué sur des selles de patients pédiatriques soumis à des tests rotavirus dans trois sites. Tous les échantillons ont été testés par Immunocard STAT! Rotavirus, un test EIA sur membrane du marché, le test Premier Rotaclone® EIA et la microscopie électronique (ME). Les résultats du test montrés sur le tableau ci-dessous sont comparés à la microscopie électronique.¹⁸

Comparaison de l'Immunocard STAT! Rotavirus, du test EIA sur membrane du marché, Et du Premier Rotaclone® EIA par rapport à la microscopie électronique (n=249)

Résultats en Microscopie Électronique	Résultats en Immunocard STAT!		Résultats en ELISA sur membrane commercial		Résultats en Premier Rotaclone®	
	Pos	Nég	Pos	Nég	Pos	Nég
Pos	121	9	122	8	122	8
Nég	5	115	11	109	7	113
Performances	Valeur	± 95% IC	Valeur	± 95% IC	Valeur	± 95% IC
Sensibilité	93.1%	4.4%	93.8%	4.1%	93.8%	4.1%
Spécificité	95.8%	3.6%	90.8%	5.2%	94.2%	4.2%
VPP	96.0%	3.4%	91.7%	4.7%	94.6%	3.9%
VPN	92.7%	4.6%	93.2%	4.6%	93.4%	4.4%
Corrélation	94.4%	2.9%	92.4%	3.3%	94.0%	2.9%

Les 5 échantillons positifs en Immunocard STAT ! Rotavirus, négatifs en microscopie électronique, étaient positifs par le test Premier Rotaclone® et le test EIA sur membrane du marché. 6 des 9 échantillons négatifs en Immunocard STAT ! Rotavirus, positifs en microscopie électronique étaient négatifs par les trois immunoessais. De plus, les estimations quantitatives réalisées par le technicien de microscopie indiquent que 8 de ces échantillons contenaient quelques particules de rotavirus.

Résultats en Immunocard STAT!	Résultats en Premier Rotaclone®	
	Positif	Négatif
Positif	126	0
Négatif	3	122
Performances	Valeur	± 95% IC
Sensibilité Relative	97.7%	2.6%
Spécificité Relative	100.0%	0.0%
Corrélation Relative	98.8%	1.3%

2 des 3 échantillons négatifs en Immunocard STAT! Rotavirus, positifs en Premier Rotaclone® étaient négatifs en microscopie électronique. Le dernier était positif en microscopie électronique.

SPECIFICITE DU TEST

La spécificité du test Immunocard STAT! Rotavirus a été évaluée en utilisant des souches bactériennes et virales de référence dont la liste est donnée ci-dessous. Un échantillon positif pour le rotavirus et un échantillon négatif pour le rotavirus ont été inoculés avec les bactéries ($\geq 6 \times 10^8$ ufc/mL de selle) ou les virus ($\geq 1 \times 10^{2.7}$ TCID₅₀/mL).

Micro-organismes ou virus (nombres de souches testées)

Aeromonas hydrophila (1)
Bacillus cereus (1)
Bacillus subtilis (1)
Bacteroides fragilis (1)
Campylobacter coli (1)
Campylobacter fetus (1)
Campylobacter jejuni (1)
Citrobacter freundii (1)
Clostridium difficile (1)
Clostridium sordellii (1)
Enterobacter aerogenes (1)
Escherichia coli (1)

Escherichia coli (O157:H7) (1)
Escherichia coli (non-O157:H7, SLT+) (1)
Helicobacter pylori (1)
Klebsiella pneumoniae (1)
Proteus mirabilis (1)
Pseudomonas aeruginosa (1)
Salmonella (1)
Serratia liquefaciens (1)
Shigella dysenteriae (1)
Shigella flexneri (1)
Shigella sonnei (1)

Staphylococcus aureus (1)
Staphylococcus aureus (Cowan 1) (1)
Streptococcus faecalis (1)
Vibrio cholerae (1)
Vibrio parahaemolyticus (1)
Adenovirus, types 2, 40, 41
Coronavirus
Coxsackie types A9, B1, B6
Echovirus, types 22, 32
Enterovirus, type 69
Poliovirus, type 1

Tous les résultats ont été trouvés négatifs lorsque ces organismes ont été introduits dans les selles négatives. De plus, ces organismes n'interfèrent pas avec les échantillons positifs, ni avec la procédure de contrôle.

Des études avec différents sérotypes des rotavirus de groupe A (la forme la plus commune) montrent que le test Immunocard STAT! Rotavirus détecte les sérotypes 1, 2, 3 et 4. La réactivité avec les sérotypes 8 et 9 n'a pas été évaluées.

PRECISION DU TEST

Trois laboratoires privés ont testé 6 échantillons et 2 contrôles, 3 fois, sur 3 jours différents. La ligne **Test** du système Immunocard STAT! Rotavirus a montré 100% de reproductibilité sur les échantillons négatifs et moyennement positifs, et 96% de reproductibilité sur les échantillons faiblement positifs. La reproductibilité de la ligne **Contrôle** était de 100% avec tous les échantillons.

immunocard STAT![®] Rotavirus

UN INMUNOENSAYO RÁPIDO PARA DETECTAR ANTÍGENO DE ROTAVIRUS EN MATERIA FECAL HUMANA

REF 750030

IVD

R_x Only

USO INDICADO

El test de inmunoensayo Immunocard STAT! Rotavirus es un procedimiento in vitro cualitativo y rápido para la detección de antígeno de rotavirus presentes en muestras de materia fecal humana. El test puede ser de ayuda en el diagnóstico de la gastroenteritis asociada con rotavirus.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El rotavirus es una causa importante de gastroenteritis aguda, especialmente en niños entre 6-24 meses de edad.¹⁻³ Además, las infecciones por rotavirus pueden producir enfermedad grave al igual que infecciones asintomáticas en adultos.^{1, 2, 4, 5} El período de incubación de la infección por rotavirus por lo general es de uno a tres días, seguido de gastroenteritis con una duración promedio de cinco a ocho días. Los títulos víricos alcanzan un valor máximo poco después del comienzo de la enfermedad y luego disminuyen.^{2, 6, 7} Debido a que los métodos de cultivo disponibles son inadecuados, el rotavirus humano por lo general no es aislado a partir de las muestras que lo contienen,^{2, 8} y durante muchos años el método estándar de detección para rotavirus ha sido la microscopía electrónica. Sin embargo, hoy día, los métodos de elección son pruebas de aglutinación e inmunoensayo recientemente introducidos al mercado, y que poseen mayor especificidad y sensibilidad.⁹⁻¹⁵ El test Immunocard STAT! Rotavirus es una alternativa simple y rápida para la detección de antígeno de rotavirus presente en materia fecal del paciente.

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

El test Immunocard STAT! Rotavirus detecta la presencia de antígeno de rotavirus en la materia fecal. La muestra del paciente es diluida 1:15 en Diluyente de Muestra, la suspensión es mezclada, y luego 150 µL de la dilución son añadidos al puerto de la Muestra de la tarjeta. La muestra entonces moviliza partículas de oro recubiertas con anticuerpo monoclonal contra rotavirus; migra a lo largo de la membrana y a través de las zonas de **Test** (que contiene anticuerpos policlonales anti-rotavirus) y de **Control**. Después de diez minutos, las zonas de **Test** y de **Control** son observadas para determinar la presencia de una línea de color rojo/morado a través de la superficie de la membrana. En caso de que el rotavirus se encuentre presente en la muestra, se forma un complejo entre el anticuerpo de captura y el conjugado anticuerpo monoclonal –oro que puede visualizarse como una línea de color rojo/morado en la zona de **Test**. La ausencia de una línea de color rojo/morado en la zona de **Test** indica un resultado negativo. La línea de **Control** sirve como un control interno para asegurar que la muestra ha migrado la distancia apropiada a lo largo de la membrana.

REACTIVOS/MATERIALES PROPORCIONADOS

El número máximo de pruebas que se puede obtener con este equipo está indicado en la exterior de la caja.

1. **Immunocard STAT! Rotavirus Tarjetas** – Tarjetas individualmente empacadas en bolsas de papel aluminio, y que contienen anticuerpo inmovilizado de conejo anti-rotavirus (zona de **Test**), anticuerpo caprino anti-IgG antimurino (zona de **Control**) y anticuerpo monoclonal contra rotavirus VP-6 dentro de la membrana y conjugado a partículas de oro.
2. **Control Positivo** – Rotavirus inactivado (SA-11) en un buffer que contiene 0,02% de timerosal como agente preservante.
3. **Diluyente de Muestra** – Buffer que contiene 0,1% de azida de sodio como agente preservante.
4. **Pipetas de transferencia**

MATERIALES NO PROPORCIONADOS

1. Tubos de ensayo de 12 x 75 mm
2. Aplicadores de madera (recomendados para materias fecales sólidas)
3. Cronómetro

PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. Las concentraciones de los reactivos, tiempos de incubación y temperaturas (21-25 C) han sido optimizados para la sensibilidad y especificidad. Cifrándose a estas especificaciones, se obtienen mejores resultados. Una vez que el ensayo ha comenzado, los pasos subsecuentes deben ser completados sin interrupción.
3. Las muestras de los pacientes y las tarjetas Immunocard STAT! Rotavirus pueden contener agentes infecciosos y deben ser manejados a un nivel de Bioseguridad 2, tal y como se recomienda en el manual CDC/NIH (Centro para el Control de Enfermedades Infecciosas, Instituto Nacional de Salud de los EE.UU.) "Seguridad Biológica en Laboratorios de Microbiología y Biomedicina".
4. El reactivo del Control Positivo contiene rotavirus inactivado. No obstante, éste debe ser manejado como un agente biológico potencialmente infeccioso.
5. Antes de usarse, todos los reactivos deben alcanzar la temperatura ambiente (21-25 C) y luego mezclarse suavemente.
6. No deben intercambiarse reactivos provenientes de distintos lotes de kits, ni tampoco usarse reactivos después de que éstos hayan expirado.
7. Sujete el vial del Control Positivo verticalmente para asegurarse de que éste dispense gotas de tamaño adecuado. No permita que las puntas del vial o de la pipeta toquen el puerto de la Muestra.
8. Use sólo una pipeta de transferencia por cada control o muestra a ser analizada, y deséchela después. No trate de volver a utilizar la pipeta.
9. La materia fecal debe ser mezclada concienzudamente (a pesar de su consistencia) para asegurarse que una muestra representativa sea tomada antes de pipetear las heces. No utilice heces que se hayan secado.
10. La dilución de la materia fecal como se describe bajo el título de **Dilución de la muestra** es importante. La sobre-inoculación de muestra en el Diluyente de Muestra puede restringir el movimiento dentro de la tarjeta Immunocard STAT! Rotavirus y producir un resultado inválido.

ADVERTENCIA: Algunos reactivos presentes en este kit contienen azida de sodio que resulta irritante para la piel. Por favor, evite el contacto con estos reactivos. Al desechar reactivos que contienen azida de sodio en tuberías de plomo o de cobre, pueden formarse compuestos explosivos de azidas metálicas. Esto puede evitarse enjuagando con cantidades copiosas de agua los desagües, durante el momento en que se desechan estos reactivos.

DECLARACIONES DE RIESGO Y PRECAUCIÓN

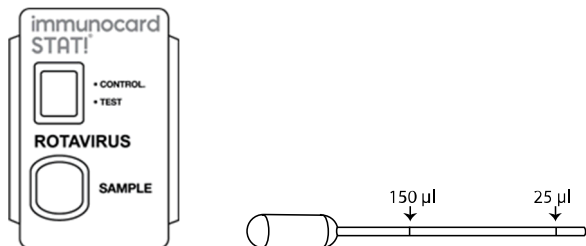
No se conoce ningún riesgo asociado con este producto.

VIDA UTIL Y ALMACENAMIENTO

La fecha de expiración está indicada en el rótulo del kit. Almacene el kit entre 2-8 C.

NOTAS PARA EL PROCEDIMIENTO

1. El diagrama que se muestra a continuación corresponde al formato de la Tarjeta de Test Immunocard STAT! Rotavirus



2. Es posible correr una serie de muestras o controles siempre y cuando se mantenga precisión en la secuencia de adición de los reactivos y los tiempos de incubación, y en la lectura de cada tarjeta.
3. La zona **Control** de cada tarjeta es un control del procedimiento para asegurar que la muestra ha migrado suficientemente dentro de la tarjeta, y consecuentemente, para permitir que un resultado válido sea leído.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS

1. Todos los reactivos vienen listos para usar y no requieren diluciones adicionales.
2. Permita que los componentes del kit alcancen una temperatura entre 21-25 C antes de usarlos.
3. Antes de usarlos, mezcle suavemente los reactivos líquidos.

RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Para obtener mejores resultados, las muestras deben obtenerse después del comienzo de los síntomas. Varios autores han reportado números disminuidos de partículas de rotavirus después del día ocho o nueve, y recuentos máximos de partículas durante los días tres a cinco. Las muestras recolectadas después del día ocho o nueve pueden resultar menos reactivas que aquellas recolectadas antes durante el curso de la enfermedad.^{2, 6, 7} Las muestras que contienen una gran cantidad de sangre pueden no migrar a través de la tarjeta Immunocard STAT! Rotavirus, lo cual puede traer como consecuencia un resultado inválido del test. Por lo tanto, bajo estas circunstancias, se recomienda analizar una muestra adicional.

Las muestras de materia fecal pueden ser recolectadas mediante el método de rutina utilizado por el laboratorio, siempre y cuando no ocurra dilución de la muestra. Una muestra puede ser recolectada dentro de un recipiente limpio, seco y sin residuos de detergente, o a partir de un pañal.

La muestra debe ser analizada lo más pronto posible, pero puede almacenarse hasta durante 72 horas entre 2-8 C antes de realizar el test. En caso de que la muestra no pueda ser analizada durante este período, ésta deberá ser congelada en un congelador sin descongelación automática a -20 C o menos.

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

Nota: Antes de usar, todos los componentes deben haber alcanzado entre 21-25 C.

- Dilución de la muestra
 - Añada 350 µL de Diluyente de Muestra a un tubo de ensayo de 12 x 75 mm por cada muestra que ha de analizarse.
 - Mezcle la materia fecal completamente, independientemente de su consistencia.
 - Muestras líquidas o semi-sólidas: utilizando una pipeta de transferencia, aspire materia fecal hasta la marca de calibración de 25 µL (la primera marca desde la punta de la pipeta). Dispense la muestra de heces dentro del tubo de ensayo de 12 x 75 mm que contiene el Diluyente de Muestra. Usando la misma pipeta, con cuidado aspire y expulse la suspensión de materia fecal varias veces, y luego mezcle en un vórtex durante diez segundos. Deje la pipeta de transferencia en el tubo, para usarla más tarde. **Nota:** no pipetee más de 25 µL de materia fecal. La sobre inoculación con heces en exceso puede producir resultados inválidos. Proceda con el paso 2 dentro de los próximos 30 minutos.
 - Materia fecal Sólida (no pipeteable a partir de un pañal); usando un aplicador de madera transfiera una porción de heces de 2 mm de diámetro dentro del tubo de ensayo apropiado de 12 x 75 mm que contiene el Diluyente de Muestras. Emulsifique la materia fecal concienzudamente utilizando el aplicador de madera, y luego mezcle en un vórtex durante diez segundos. Coloque la pipeta de transferencia en el tubo. Proceda con el paso 2 dentro de 30 minutos.
- Remueva el número apropiado de tarjetas de Immunocard STAT! Rotavirus de las bolsas que las contienen. Utilice una tarjeta marcada apropiadamente por cada control o muestra.
- Mezcle en un vórtex cada muestra diluida durante diez segundos. Utilizando la pipeta de transferencia original, aspire la mezcla diluida hasta la marca de calibración de 150 µL (la segunda marca desde la punta de la pipeta) y añada hasta el puerto de la **Muestra**.
- Incuba durante diez minutos entre 21-25 C. **NOTA:** durante la incubación de diez minutos, la muestra diluida debe moverse más allá de la zona de **Control**.
- Examine visualmente las zonas de **Control** y **Test** para determinar la presencia o ausencia de una línea roja-morada al final del período de incubación.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Resultado Positivo del Test: Líneas de color rojo/morado claramente detectables a simple vista en las zonas de **Control** y de **Test**. Un resultado positivo indica la presencia del antígeno de rotavirus.¹
Resultado Negativo del Test: Línea de color rojo/morado claramente detectable a simple vista en la zona de **Control**. No hay una línea roja/morada presente en la zona de **Test**. Un resultado negativo indica que el antígeno de rotavirus está ausente, o que su concentración está por debajo del nivel de detección del test.
Resultado Inválido del Test: No hay una línea de color rojo/morado claramente detectable a simple vista en la zona de **Control**, con o sin una línea de color rojo/morado claramente detectable en la zona de **Test**.²

¹Los niveles de la detección y de los anticuerpos de captura fueron ajustados para lograr un nivel de funcionamiento equivalente con el test Premier Rotacclone EIA.

²Los resultados inválidos en la prueba pueden deberse a un problema de los reactivos o de la tarjeta, a un error en el procedimiento o a una sobreinoculación con materia fecal del Diluyente de Muestra, durante la dilución de la misma. En este caso, vuelva a diluir la materia fecal, y repita el test. Las muestras de materia fecal que contienen gran cantidad de sangre posiblemente no migren adecuadamente, y esto, consecuentement, trae como resultado la invalidez de la prueba. Es recomendable que cuando esto suceda, se recolecte una nueva muestra y con ésta se repita el test. En algunas ocasiones, la materia fecal puede tener niveles muy altos de antígeno de rotavirus, y por lo tanto, producirá una línea visible en la zona de **Test**, y no habrá una línea visible en la zona de **Control**. En estos casos, se puede diluir la muestra dos o más veces por encima de la dilución original de 1:15 (p.ej. 25 µL de materia fecal y 750 µL de Diluyente de Muestra), y luego volver a analizar.

CONTROL DE CALIDAD

Este ensayo debe ser realizado siguiendo las regulaciones de acreditación locales, estatales o federales.

Los Controles Positivo y Negativo deben ser probados con cada lote nuevo o con cada embarque. De ahí en adelante, Meridian considera que el control del procedimiento, realizado con cada test es suficiente para verificar la integridad de los reactivos y el funcionamiento de la prueba. Los controles positivo y negativo tienen como objeto monitorear fallas de los reactivos, pero éstos no asegurarán precisión en el límite de detección ("cut-off point") analítico del ensayo. Controles adicionales pueden ser analizados de acuerdo con las guías o requerimientos de las organizaciones reguladoras y acreditadoras locales, estatales y/o federales.

Añadas tres gotas de Control Positivo, o usando una pipeta de transferencia, añada 150 µL de Diluyente de Muestra (Control Negativo) directamente al puerto de la **Muestra** en la tarjeta apropiada. No diluya el Control Positivo.

- El Control Positivo debe generar una línea fácilmente detectable a la vista y de color rojo/morado en las líneas de **Control** y de **Test**.
- El Control Negativo debe generar una línea fácilmente detectable a la vista y de color rojo/morado en la línea de **Control**. No deberá haber ninguna línea en la zona de **Test**.

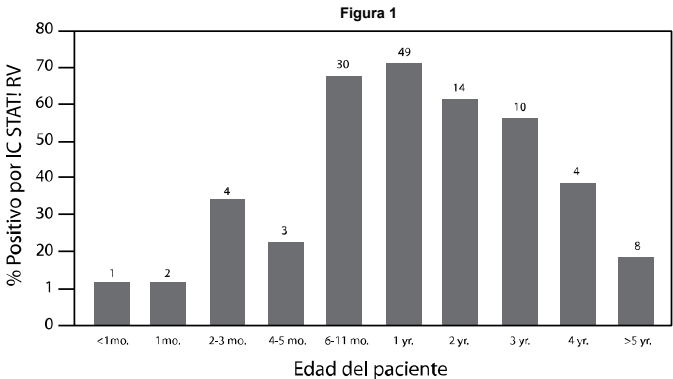
Si los resultados esperados para el control no son observados, repita la prueba de control como primer paso para determinar la causa de la falla. Si se repite la falla luego de repetir el control contacte el Departamento de Servicios Técnicos de Meridian al 1-800-343-3858 (USA) o su distribuidor local.

VALORES ESPERADOS

El test Immunocard STAT! Rotavirus detecta la presencia de antígeno de rotavirus en materia fecal. Los valores esperados para una población determinada deben ser determinados en cada laboratorio. La incidencia de positividad puede variar dependiendo de la edad del paciente, localización geográfica, estación, método de recolección, transporte y almacenamiento de la muestra, y ambiente general de salud de la población de pacientes que están siendo estudiados.^{2, 16}

Se ha reportado que en los neonatos, cuando el rotavirus está presente, la infección se manifiesta como una enfermedad leve o es completamente asintomática.^{2, 6, 17} Sin embargo, durante los meses más fríos, el rotavirus puede ser responsable de aproximadamente el 50% o más de las gastroenteritis encontradas en niños hospitalizados.^{3, 16} En cambio, en adultos, la incidencia de gastroenteritis severa causada por este virus es relativamente baja, y cuando los adultos son infectados, generalmente no presentan síntomas.^{2, 4} Los estudios en centros de atención para personas de edad avanzada y servicios hospitalarios geriátricos muestran que esta población tiene un riesgo mayor, y es más susceptible a la enfermedad asociada con rotavirus.^{2, 17}

Los estudios clínicos del Test Immunocard STAT! Rotavirus realizados en tres hospitales diferentes (dos hospitales pediátricos de las regiones del oeste medio y de la Costa Oeste de los EE.UU., y un hospital general de la Costa Este de los EE.UU.) examinaron la incidencia de rotavirus en grupos de edad diferente (véase Figura 1). Los valores presentados sobre las barras de frecuencia indican el número de muestras positivas en el Test Immunocard STAT! Rotavirus



LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El test Immunocard STAT! Rotavirus no define la presencia de gastroenteritis asociada con el rotavirus, éste solamente demuestra la presencia del antígeno en la materia fecal. Como en todos los procedimientos diagnósticos *in vitro*, los resultados del test deben ser interpretados por un médico teniendo en cuenta otra información clínica disponible.
- El límite de detección en muestras de materia fecal es de 1,8-3,7 x 10⁶ partículas de rotavirus (SA-11) por volumen de test.
- El uso de materia fecal de recién nacido (meconio) no es recomendado en este test, puesto que las características de funcionamiento de este tipo de muestra no han sido evaluadas.
- Un resultado positivo no excluye la presencia de otros organismos infectantes.

CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMIENTO

El test Immunocard STAT! Rotavirus fue evaluado en materias fecales de pacientes pediátricos, que fueron recogidas en tres centros de estudio, con el objeto de determinar la presencia de rotavirus. Todas las muestras fueron analizadas con varias pruebas; entre ellas, Microscopía Electrónica (ME), y tres pruebas de EIA: Immunocard STAT! Rotavirus, una prueba comercial de la competencia: EIA a través de flujo en membrana, y EIA en micropocillos Premier Rotacclone®. La tabla que se muestra a continuación compara los resultados de las pruebas EIA con los de microscopía electrónica.¹⁸

Comparación entre los resultados de tres test EIA: Immunocard STAT! Rotavirus, test comercial EIA a través de flujo en membrana, y EIA Premier Rotacclone®, y los de Microscopía Electrónica (ME) para Rotavirus. (n=249)

Resultados de La Microscopía Electrónica	Resultados de Immunocard STAT! Rotavirus		Resultados del test comercial EIA a través de flujo en membrana		Resultados del test Premier Rotacclone®	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Pos	121	9	122	8	122	8
Neg	5	115	11	109	7	113
Característica de funcionamiento	Valor	IX ± 95%	Valor	IX ± 95%	Valor	IX ± 95%
Sensibilidad	93.1%	4.4%	93.8%	4.1%	93.8%	4.1%
Especificidad	95.8%	3.6%	90.8%	5.2%	94.2%	4.2%
Valor Predictivo Pos.	96.0%	3.4%	91.7%	4.7%	94.6%	3.9%
Valor Predictivo Neg.	92.7%	4.6%	93.2%	4.6%	93.4%	4.4%
Correlación	94.4%	2.9%	92.4%	3.3%	94.0%	2.9%

Las cinco muestras Immunocard STAT! Rotavirus positivas, con resultado de microscopía electrónica negativo, fueron positivas en el test Premier Rotacclone® y en el otro test comercial de EIA a través de flujo de membrana. Seis de las nueve muestras Immunocard STAT! Rotavirus negativas, microscopía electrónica positivas, dieron resultado negativo en las tres pruebas de inmunoensayo. Más aún, los estimados cuantitativos realizados por el técnico de microscopía electrónica indicaron que ocho de estas nueve muestras contenían pocas partículas virales.

Resultados de Immunocard STAT!	Resultados de Premier Rotacalone®	
	Positivo	Negativo
Positivo	126	0
Negativo	3	122
Estadística	Valeur	IC ± 95%
Sensibilidad Relativa	97.7%	2.6%
Especificidad Relativa	100.0%	0.0%
Correlación	98.8%	1.3%

Dos de las tres muestras con resultado negativo en el test Immunocard STAT! Rotavirus, y positivo en el test Premier Rotacalone®, dieron resultado negativo por microscopía electrónica; y una de las tres dio resultado positivo por microscopía electrónica.

ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBA

La especificidad del test Immunocard STAT! Rotavirus fue evaluada con las cepas bacterianas y virales anotadas en la lista que se presenta a continuación. A una muestra de materia fecal positiva para rotavirus, y a una negativa para el mismo, les fueron adicionadas bacterias ($\geq 6 \times 10^8$ UFC/mL) y virus ($\geq 1 \times 10^{2.7}$ TCID₅₀/mL (50% de la dosis infectante en cultivo tisular por mililitro)).

Microorganismo o virus (# de cepas probadas)

<i>Aeromonas hydrophila</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (O157:H7) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (1)
<i>Bacillus cereus</i> (1)	<i>Escherichia coli</i> (non-O157:H7, SLT+) (1)	<i>Staphylococcus aureus</i> (Cowan 1) (1)
<i>Bacillus subtilis</i> (1)	<i>Helicobacter pylori</i> (1)	<i>Streptococcus faecalis</i> (1)
<i>Bacteroides fragilis</i> (1)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	<i>Vibrio cholerae</i> (1)
<i>Campylobacter coli</i> (1)	<i>Proteus mirabilis</i> (1)	<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (1)
<i>Campylobacter fetus</i> (1)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1)	Adenovirus, types 2, 40, 41
<i>Campylobacter jejuni</i> (1)	<i>Salmonella</i> (1)	Coronavirus
<i>Citrobacter freundii</i> (1)	<i>Serratia liquefaciens</i> (1)	Coxsackie types A9, B1, B6
<i>Clostridium difficile</i> (1)	<i>Shigella dysenteriae</i> (1)	Echovirus, types 22, 32
<i>Clostridium sordellii</i> (1)	<i>Shigella flexneri</i> (1)	Enterovirus, type 69
<i>Enterobacter aerogenes</i> (1)	<i>Shigella sonnei</i> (1)	Poliovirus, type 1
<i>Escherichia coli</i> (1)		

Al ser adicionados a la materia fecal negativa, todos los organismos dieron resultado negativo. Además, éstos no interfirieron con la muestra positiva, ni con el control del procedimiento.

Los estudios realizados con serotipos diferentes de rotavirus grupo A (la forma más común) demostraron que el test Immunocard STAT! Rotavirus detecta los serotipos 1, 2, 3 y 4. La reactividad con los serotipos 8 y 9 no ha sido evaluada.

PRECISIÓN DEL TEST

Tres laboratorios de consultorios médicos evaluaron seis muestras con los dos controles por triplicado, durante tres días diferentes. La línea de **Test** de la tarjeta de prueba Immunocard STAT! Rotavirus demostró una reproducibilidad del 100% en las muestras de materia fecal con resultado negativo y positivo medio, y del 96% en las muestras con resultado positivo bajo. La reproducibilidad de la línea de **Control** fue del 100% con todas las muestras.

immunocard STAT![®] Rotavirus

IMMUNO-SCHNELLTEST ZUM NACHWEIS VON ROTAVIRUS-ANTIGEN IN HUMANEM STUHL

REF 750030

IVD

Rx Only

VERWENDUNGSZWECK

Der Immunocard STAT! Rotavirus-Immunoassay ist ein qualitativer *in vitro*-Schnelltest zum Nachweis von Rotavirus-Antigenen in humanem Stuhl. Der Test kann zur Unterstützung der Diagnoserstellung von Rotavirus-assoziiierter Gastroenteritis herangezogen werden.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Das Rotavirus ist eine der Hauptursachen akuter Gastroenteritis, vor allem bei Kindern im Alter zwischen sechs und 24 Monaten.¹⁻³ Hinzu kommt, dass Rotavirus-Infektionen bei Erwachsenen sowohl einen schweren Verlauf haben als auch asymptomatisch sein können.^{1,2,4,5} Die Inkubationsperiode von Rotavirus-Infektionen dauert normalerweise ein bis drei Tage gefolgt von einer Gastroenteritis mit einer durchschnittlichen Dauer von fünf bis acht Tagen. Die Virus-Konzentration im Stuhl erreicht ein Maximum kurz nach dem Beginn der Erkrankung und nimmt dann ab.^{2,6,7} Durch die Unzulänglichkeiten bestehender Methoden zur Kultivierung wird das menschliche Rotavirus nicht routinemäßig aus Rotavirus-haltigen Proben isoliert.^{2,8} Die Elektronenmikroskopie war viele Jahre lang die Standardmethode zum Rotavirus-Nachweis. Die kürzlich eingeführten Enzymimmunoassays und Latex-Agglutinations-Tests mit ihrer erhöhten Sensitivität und Spezifität sind jedoch nun die Methoden der Wahl.⁹⁻¹⁵ Der Immunocard STAT! Rotavirus-Test bietet eine einfache, schnelle Methode zum Nachweis von Rotavirus-Antigen in Patienten-Stuhl.

BIOLOGISCHE PRINZIPIEN

Der Immunocard STAT! Rotavirus Test weist das Vorkommen von Rotavirus-Antigen im Stuhl nach. Die Patientenprobe wird 1:15 in Proben-Verdünnungspuffer verdünnt. Die Suspension wird durchgemischt und 150 µL davon werden in das Probenfenster der Karte gegeben. Die Probe mobilisiert Goldpartikel, die mit monoklonalen Antikörpern gegen Rotaviren beschichtet sind, und wandert entlang der Membran durch die **Test-** (polyklonale Anti-Rotavirus-Antikörper) und die **Kontrollzone**. Nach 10 Minuten wird mit bloßem Auge überprüft, ob sich in den **Test-** und **Kontrollzone** rote bis purpurne Linien quer über der Membranoberfläche gebildet haben. Wenn in der Probe Rotaviren vorhanden sind, bildet sich ein Komplex zwischen dem Capture-Antikörper und dem monoklonalen Antikörper-Gold-Konjugat, der als rote bis purpurne Linie in der **Testzone** zu erkennen ist. Wenn keine rote bis purpurne Linie in der **Testzone** zu sehen ist, liegt ein negatives Ergebnis vor. Die **Kontrolllinie** dient als Verfahrenskontrolle, die sicherstellt, dass die Probe über eine ausreichende Entfernung entlang der Membran gewandert ist.

REAGENZIEN/ENTHALTENE MATERIALIEN

Die **Höchstzahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der Außenseite der Packung angegeben.**

1. **Immunocard STAT! Rotavirus** Testkarten: einzeln in Folie verpackte Karten mit folgenden Bestandteilen: fest gebundene Kaninchen anti-Rotavirus-Antikörper (in der **TEST**zone), Ziege anti-Maus IgG-Antikörper (in der **Kontrollzone**) und eingebettete monoklonale Antikörper gegen Rotavirus VP-6, die mit Goldpartikeln konjugiert sind
2. **Positiv-Kontrolle:** inaktiviertes Rotavirus (SA-11) in einem Puffer mit 0,02% Thiomersal als Konservierungsmittel
3. **Proben-Verdünnungspuffer:** Puffer mit 0,1% Natriumazid als Konservierungsmittel
4. **Transfer-Pipetten**

BENÖTIGTE, ABER NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN

1. 12 x 75 mm Reagenzröhrchen
2. kleine Spatel (für feste Stühle empfohlen)
3. Stopp-Uhr

VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die *in vitro* Diagnostik bestimmt.
2. Reagenzien-Konzentrationen, Inkubationszeiten und Temperaturen (21-25 °C) wurden bezüglich Sensitivität und Spezifität optimiert. Die besten Resultate werden bei Einhalten dieser Vorgaben erzielt. Wenn der Test einmal begonnen wurde, sollten alle weiteren Schritte ohne Unterbrechung beendet werden.
3. Patientenproben und benutzte Immunocard STAT! Rotavirus-Testkarten können infektiöse Erreger enthalten und sollten nach den Biosafety Level 2 – Richtlinien – wie in dem CDC/NIH Handbuch „Biosafety in Microbiology and Biomedical Laboratories“, beschrieben – gehandhabt werden.
4. Die Positiv-Kontrolle enthält inaktivierte Rotaviren. Sie sollte dennoch als potentiell infektiös behandelt werden.
5. Alle Reagenzien sollten vorsichtig gemischt und vor Gebrauch auf 21-25 °C gebracht werden.
6. Reagenzien aus Testkits mit unterschiedlicher Chargennummer sollten nicht ausgetauscht werden. Abgelaufene Reagenzien nicht verwenden.
7. Reagenzien-Flaschen senkrecht halten, um eine sorgfältige Zugabe von Tropfen der richtigen Größe zu erzielen. Die Probenfenster nicht mit den Spitzen der Flaschen oder den Pipetten berühren.
8. Nur jeweils eine Transferpipette pro Kontrolle oder Probe benutzen. Nach Gebrauch wegwerfen. Auf keinen Fall wiederverwenden.
9. Stuhl muss vor dem Pipettieren sorgfältig durchgemischt werden (unabhängig von der Konsistenz), um eine repräsentative Probe zu erhalten. Keine eingetrockneten Stühle verwenden.
10. Die Verdünnung der Stuhlproben wie unter **Probenverdünnung** beschrieben ist wichtig. Das Einbringen von zuviel Stuhlmaterial in den Proben-Verdünnungspuffer kann die Wanderung der Probe in der Immunocard STAT! Rotavirus Testkarte behindern und so ein ungültiges Ergebnis erzielen.

WARNUNG: Einige Reagenzien dieses Testkits enthalten Natriumazid, das hautreizend wirkt. Hautkontakt mit den Reagenzien vermeiden. Das Entsorgen von Natriumazid-haltigen Reagenzien in Blei- oder Kupferrohren kann zur Bildung explosiver Metallazide führen. Dies kann durch Spülen mit großen Wassermengen während des Entsorgens vermieden werden.

GEFAHREN UND SICHERHEITSHINWEISE

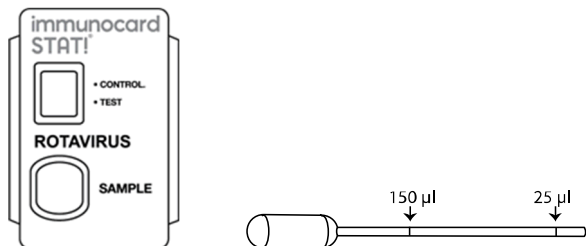
Es gibt keine bekannten Gefahren die mit diesem Produkt verbunden sind.

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Haltbarkeitsdatum ist auf dem Etikett des Tests angegeben. Der Testkit sollte bei 2-8 °C gelagert werden.

HINWEISE ZUR DURCHFÜHRUNG

1. Die Immunocard STAT! Rotavirus-Testkarte ist unten abgebildet:



2. Die Analyse einer großen Serie von Proben oder Kontrollen ist möglich, vorausgesetzt, dass die Inkubationszeiten für jede Karte eingehalten werden.
- Die **Kontrollzone** jeder Karte dient als Verfahrenskontrolle, die sicherstellt, dass die Probe ausreichend in der Karte gewandert ist, und so ein gültiges Testresultat abgelesen werden kann.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

1. Alle Reagenzien werden gebrauchsfertig geliefert und müssen nicht verdünnt werden.
2. Alle Bestandteile des Testkits vor Gebrauch auf Raumtemperatur (21-25 °C) bringen.
3. Flüssige Reagenzien vor Gebrauch vorsichtig durchmischen.

PROBENNAHME UND VORBEREITUNG

Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Proben nach dem Einsetzen der Symptome genommen werden. Mehrere Autoren beschrieben eine Abnahme der Rotavirus-Konzentration nach Tag acht oder neun, wobei das Maximum zwischen den Tagen drei bis fünf lag. Proben, die nach Tag acht oder neun genommen wurden, sind eventuell weniger reaktiv als diejenigen, die früher im Verlauf der Erkrankung genommen wurden.^{2,8,7} Proben, die einen hohen Blutanteil haben, können eventuell in den Immunocard STAT! Rotavirus-Testkarten nicht fließen, so dass das Testergebnis ungültig ist. In diesem Fall sollte eine zusätzliche Probe analysiert werden.

Stuhlproben können mit der labor-eigenen Standardmethode genommen werden, vorausgesetzt, dass die Proben nicht verdünnt werden. Die Probe kann in einen sauberen, trockenen Behälter ohne Detergenzien überführt werden oder von einer Windel genommen werden.

Die Probe sollte so schnell wie möglich analysiert werden, kann aber bis zu 72 Stunden bei 2-8 °C vor dem Test gelagert werden. Wenn die Analyse nicht innerhalb dieses Zeitrahmens durchgeführt werden kann, sollte die Probe in einem nicht selbst-abtauenden Gefriergerät (-20 °C und weniger) eingefroren werden.

TESTDURCHFÜHRUNG

Achtung: Alle Testbestandteile müssen vor Gebrauch auf 21-25 C gebracht werden.

1. Probenverdünnung:

a. Für jede zu analysierende Probe 350 µL Proben-Verdünnungspuffer in ein 12 x 75mm Reagenzröhrchen geben

b. Den Stuhl sorgfältig vor dem Pipettieren mischen, unabhängig von der Konsistenz.

c. Flüssiger oder halbfester Stuhl: mit einer Transferpipette den Stuhl bis zur 25 µL-Markierung (erste Markierung von der Spitze der Pipette aus) aufziehen. Den Stuhl in ein für die Probe vorgesehenes 12 x 75 mm Reagenzglaschen mit Proben-Verdünnungspuffer geben. Mit derselben Pipette die Stuhlsuspension mehrmals aufziehen und ausdrücken, dann 10 Sekunden auf dem Rüttler mischen. Die Transferpipette in dem Gläschen zur weiteren Benutzung lassen. **Achtung:** nicht mehr als 25 µL Stuhl pipettieren. Eine Überinokulation von Stuhl kann zu ungültigen Ergebnissen führen. Innerhalb von 30 Minuten mit Schritt 2 beginnen.

d. Fester Stuhl (nichtpipettierbarer Stuhl von einer Windel): mit einem kleinen Holzspatel eine 2 mm im Durchmesser große Portion Stuhl entnehmen und in den Proben-Verdünnungspuffer in dem vorgesehenen 12 x 75 mm Reagenzglaschen geben. Den Stuhl mit dem Spatel sorgfältig aufemulgieren, dann 10 Sekunden lang auf dem Rüttler mischen. Die Transferpipette in das Röhrchen geben. Innerhalb von 30 Minuten mit Schritt 2 beginnen:
2. Die benötigte Anzahl von Immunocard STAT! Rotavirus Testkarten aus ihren Verpackungen nehmen. Beschriften. Nur eine Karte für jede Kontrolle oder Probe benutzen.
3. Jede verdünnte Probe 10 Sekunden lang auf dem Rüttler mischen. Mit der ursprünglich benutzten Transferpipette die verdünnte Probe bis zur 150 µL-Markierung (zweite Markierung von der Pipettenspitze aus) aufziehen und in das **Probenfenster** geben.
4. Zehn Minuten bei 21-25 C inkubieren. **ACHTUNG:** während der zehnminütigen Inkubation muss die verdünnte Probe die **Kontrollzone** passieren.
5. Am Ende der Inkubationszeit mit bloßem Auge das Auftreten von rot bis purpurnen Linien in der **Kontroll-** und der **Testzone** ablesen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

Positives Testergebnis: mit bloßem Auge sichtbare rot bis purpurne **Test-** und **Kontroll**linien. Ein positives Ergebnis zeigt das Vorkommen von Rotavirus-Antigen an¹.

Negatives Testergebnis: mit bloßem Auge sichtbare rot bis purpurne **Kontroll**linie. Keine rot bis purpurne **Test**linie. Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass kein Rotavirus-Antigen vorhanden ist oder in einer Konzentration unterhalb der Nachweisgrenze vorkommt.

Ungültiges Testergebnis: keine mit bloßem Auge erkennbare rot bis purpurne **Kontroll**linie, mit oder ohne einer mit bloßem Auge erkennbaren rot bis purpurnen **Test**linie².

¹Die Konzentrationen der Detektions- und Capture-Antikörper wurden so eingestellt, dass die Leistungskriterien mit denen des Premier Rotacalone ELISA übereinstimmen.

²Ungültige Testergebnisse können eventuell auf Probleme der Reagenzien bzw. Der Testkarten, auf Verfahrensfehler oder auf den Einsatz von zuviel Stuhlmaterial im Proben-Verdünnungspuffer bei der Probenverdünnung zurückgeführt werden. Den Stuhl erneut verdünnen, und den Test wiederholen. Stühle mit hohem Blutanteil können eventuell nicht sauber fließen und führen so zu ungültigen Ergebnissen. Die Analyse einer weiteren Probe ist zu empfehlen. Gelegentlich kann bei einem Stuhl mit sehr hohen Konzentrationen an Rotavirus-Antigen eine sichtbare **Test**linie ohne sichtbare **Kontroll**linie auftreten. In solchen Fällen kann die Probe zweifach oder höher als die Original-Verdünnung von 1:15 (z.B. 25 µL Stuhl + 750 µL Proben-Verdünnungspuffer) verdünnt und erneut analysiert werden.

QUALITÄTSKONTROLLE

Führen Sie den Test gemäß der einschlägigen lokalen, bundesstaatlichen oder nationalen bzw. zulassungsbehördlichen Auflagen durch.

Jede neue Kitcharge oder jede neue Lieferung soll mit den positiven und negativen Kontrollen überprüft werden. Danach sind nach den Empfehlungen von Meridian die Verfahrenskontrollen, die mit jedem Test durchgeführt werden, ausreichend, um die Reagenzienqualität und die Testdurchführung zu überprüfen. Die Negativ- und Positivkontrollen sollen mögliche Reagenzienfehler überwachen, sie bestätigen jedoch nicht die Präzision am analytischen Cut-off Punkt. Zusätzliche Kontrollen können gemäß der Richtlinien oder Anforderungen von örtlichen, Landes- oder Bundesbehörden oder den akkreditierenden Organisationen getestet werden.

Drei Tropfen der Positiv-Kontrolle oder – mit einer Transfer-Pipette-150 µL Proben-Verdünnungspuffer (Negativ-Kontrolle) direkt in das **Probenfenster** der dafür vorgesehenen Testkarte geben (die Positiv-Kontrolle nicht verdünnen).

1. Die Positiv-Kontrolle sollte mit bloßem Auge erkennbare rot bis purpurne **Test-** und **Kontroll**linien aufweisen.
2. Die Negativ-Kontrolle sollte eine mit bloßem Auge erkennbare rot bis purpurne **Kontroll**linie aufweisen. Es sollte keine **Test**linie sichtbar sein.

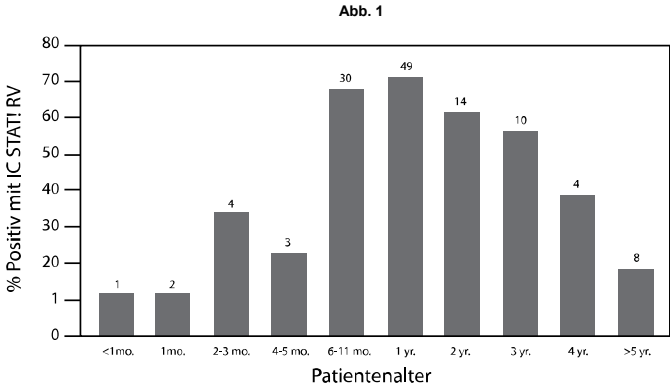
Wenn die erwarteten Reaktionen für die Kontrollen nicht beobachtet werden, wiederholen Sie zur Ermittlung der Fehlerquelle als Erstes die Kontrolltests. Lassen sich auch bei wiederholten Tests die erwarteten Reaktionen nicht erzielen, rufen Sie bitte den Technischen Support von Meridian Bioscience on (USA): (001) 800-343-3858 oder wenden Sie sich an Ihren zuständigen Vertriebspartner.

ERWARTETE WERTE

Der Immunocard STAT! Rotavirus Test weist das Vorkommen von Rotavirus-Antigen im Stuhl nach. Erwartungswerte für eine vorgegebene Population sollten für jedes Labor bestimmt werden. Die Rate positiver Ergebnisse kann schwanken in Abhängigkeit vom Patientenalter, von der Region, von der Jahreszeit, von der Methode der Probengewinnung, -handhabung und des –transports sowie von den allgemeinen Gesundheitsbedingungen der untersuchten Patientenpopulation.^{2, 16}

Für Neugeborene wurde bei Rotavirus-Infektionen die Erkrankung als mild oder gänzlich asymptomatisch beschrieben.^{2, 6, 17} Während der kälteren Monate kann das Rotavirus jedoch für nahezu 50% oder mehr der Gastroenteritiden stationär behandelter Kinder verantwortlich sein.^{3, 16} Bei Erwachsenen sind schwere Gastroenteritiden, die durch das Virus verursacht werden, relativ selten und wenn sie infiziert sind, neigen Erwachsene zur asymptomatischen Ausprägung.^{2, 4} Studien aus Pflegeheimen und aus geriatrischen Stationen oder Krankenhäusern zeigen, dass deren ältere Population ein erhöhtes Risiko trägt und anfällig ist für Rotavirus-assoziierte Erkrankungen.^{2, 17}

Die Inzidenz von Rotavirus-Infektionen in verschiedenen Altersgruppen wurde in klinischen Studien an drei verschiedenen Kliniken (an zwei Kinderkliniken an der Mittleren Westküste und an der Westküste sowie an einem Allgemeinen Krankenhaus an der Ostküste der USA) mit Immunocard STAT! Rotavirus bestimmt (Abb. 1). Die Werte oberhalb der Häufigkeitssäulen geben die Zahl der mit Immunocard STAT! Rotavirus positiv getesteten Proben an.



EINSCHRÄNKUNGEN

1. Der Immunocard STAT! Rotavirus-Test bestätigt nicht das Vorliegen einer mit Rotavirus assoziierten Gastroenteritis, sondern weist lediglich das Vorkommen des Antigens im Stuhl nach. Wie bei allen in vitro Diagnostikverfahren sollten die Testergebnisse von einem Arzt in Verbindung mit anderen klinischen Befunden interpretiert werden.
2. Die Nachweisgrenze in Stuhlproben liegt bei 1,8 – 3,7 x 10⁶ Rotavirus-Partikeln (SA-11) pro Testvolumen.
3. Der Einsatz von Mekonium in diesem Test ist nicht zu empfehlen, da die Leistungskriterien hierfür nicht evaluiert wurden.
4. Ein positives Ergebnis schließt nicht die Anwesenheit anderer Erreger aus.

LEISTUNGSMERKMALE

Der Immunocard STAT! Rotavirus Test wurde mit Stuhlproben von pädiatrischen Patienten, die zum Rotavirus-Test eingereicht worden waren, in drei Zentren überprüft. Alle Proben wurden mit dem Immunocard STAT! Rotavirus Test, einem Durchfluss-Membran ELISA der Konkurrenz, dem Premier Rotacalone® Mikrotiter ELISA und dem Elektronenmikroskop (EM) untersucht. In der Tabelle unten werden die Testergebnisse mit der Elektronenmikroskopie verglichen.¹⁸

Vergleich der Rotavirus-Ergebnisse des Immunocard STAT! Rotavirus Tests, des Konkurrenz-Membran-ELISAs und des Premier Rotacalone® ELISAs mit den Ergebnissen der Elektronenmikroskopie (n=249)

Ergebnisse der Elektronen-mikroskopie	Ergebnisse des Immunocard STAT!		Ergebnisse des Konkurrenz-Membran-EIA		Ergebnisse des Premier Rotacalone®	
	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg
Pos	121	9	122	8	122	8
Neg	5	115	11	109	7	113
Leistungsstatistik	Wert	± 95% Vertr.	Wert	± 95% Vertr.	Wert	± 95% Vertr.
Sensitivität	93.1%	4.4%	93.8%	4.1%	93.8%	4.1%
Spezifität	95.8%	3.6%	90.8%	5.2%	94.2%	4.2%
Pos. Prädiktiver Wert	96.0%	3.4%	91.7%	4.7%	94.6%	3.9%
Neg. Prädiktiver Wert	92.7%	4.6%	93.2%	4.6%	93.4%	4.4%
Korrelation	94.4%	2.9%	92.4%	3.3%	94.0%	2.9%

Alle fünf Proben, die im Immunocard STAT! Rotavirus Test positiv und in der Elektronenmikroskopie negativ waren, zeigten im Premier Rotacalone® und im Konkurrenz-Membran-ELISA positive Ergebnisse. Sechs der neun Proben, die im Immunocard STAT! Rotavirus Test negativ und in der Elektronenmikroskopie positiv waren, waren in allen drei Immunotests negativ. Darüber hinaus ergaben quantitative Abschätzungen der mikroskopischen Ablesungen, dass acht dieser Proben wenige Rotavirus Partikel enthielten.

Ergebnisse des Immunocard STAT!-Tests	Ergebnisse des Premier Rotaclo®-Tests	
	Pos	Neg
Pos	126	0
Neg	3	122
Statistik	Wert	± 95% Vertr.
Relative Sensitivität	97.7%	2.6%
Relative Spezifität	100.0%	0.0%
Relative Korrelation	98.8%	1.3%

Zwei der drei Proben, die im Immunocard STAT! Rotavirus Test negativ und im Premier Rotaclo®-Test positiv waren, zeigten in der Elektronenmikroskopie negative Ergebnisse. Eine dieser drei Proben war in der Elektronenmikroskopie positiv.

TESTSPEZIFITÄT

Der Immunocard STAT! Rotavirus Test wurde auf seine Spezifität unter Verwendung der unten aufgeführten Referenz-Bakterien- und –Virus-Stämmen überprüft. Ein Rotavirus-positiver und ein Rotavirus-negativer Stuhl wurden mit Bakterien ($\geq 6 \times 10^8$ cfu/mL Stuhl) oder Viren ($\geq 1 \times 10^{2.7}$ TCID₅₀/mL Stuhl) angeimpft.

Mikroorganismen oder Viren (Anzahl der getesteten Stämme)

Aeromonas hydrophila (1)
Bacillus cereus (1)
Bacillus subtilis (1)
Bacteroides fragilis (1)
Campylobacter coli (1)
Campylobacter fetus (1)
Campylobacter jejuni (1)
Citrobacter freundii (1)
Clostridium difficile (1)
Clostridium sordellii (1)
Enterobacter aerogenes (1)
Escherichia coli (1)

Escherichia coli (O157:H7) (1)
Escherichia coli (non-O157:H7, SLT+) (1)
Helicobacter pylori (1)
Klebsiella pneumoniae (1)
Proteus mirabilis (1)
Pseudomonas aeruginosa (1)
Salmonella (1)
Serratia liquefaciens (1)
Shigella dysenteriae (1)
Shigella flexneri (1)
Shigella sonnei (1)

Staphylococcus aureus (1)
Staphylococcus aureus (Cowan 1) (1)
Streptococcus faecalis (1)
Vibrio cholerae (1)
Vibrio parahaemolyticus (1)
Adenovirus, types 2, 40, 41
Coronavirus
Coxsackie types A9, B1, B6
Echovirus, types 22, 32
Enterovirus, type 69
Poliovirus, type 1

Alle Organismen waren im Testergebnis negativ, wenn sie negativen Stuhlproben zugesetzt wurden. Es gab auch keine Beeinträchtigung mit positiven Proben oder der Kontrolle.

Studien mit verschiedenen Serotypen der Gruppe A Rotaviren (die häufigste Form) zeigten, daß der Immunocard STAT! Rotavirus Test die Serotypen 1, 2, 3 und 4 detektiert. Die Reaktivität mit den Serotypen 8 und 9 wurde nicht evaluiert.

TESTPRÄZISION

Drei Arztpraxenlabors haben 6 Proben und zwei Kontrollen in Dreifachbestimmungen an drei verschiedenen Tagen getestet. Die **Testlinie** der Immunocard STAT! Rotavirus Testkarte zeigte 100% Reproduzierbarkeit bei den negativen und positiven Stuhlproben und 96% Reproduzierbarkeit bei den schwach positiven Stuhlproben. Die Reproduzierbarkeit der **Kontrolllinie** war 100% bei allen Proben.

REFERENCES

- Burke B, Desselberger U.. Minireview: Rotavirus Pathogenicity. Virol. 1996; 218: 299-305.
- Christensen ML. Human viral gastroenteritis. Clin Microbiol. 1989; Rev. 2: 51-89.
- Truant AL, Chonmaitree T. Incidence of rotavirus infection in different age groups of pediatric patients with gastroenteritis. J Clin Microbiol. 1982; 16: 568-569.
- Echeverria P, Blacklow NR, Cukor G, Vibulbandhik S, Changchawalit S, Boonthai P. Rotavirus as a cause of severe gastroenteritis in adults. J Clin Microbiol. 1983; 18: 663-667.
- Marrie TJ, Lee SHS, Faulkner RS, Ethier J, Young CJ. Rotavirus infection in a geriatric population. Arch Intern Med. 1982; 142: 313-316.
- Coulson BS, Holmes IH. An improved enzyme linked immunosorbant assay for the detection of rotavirus in faeces of neonates. J Virol Meth. 1984; 8: 165-179.
- Nagayoshi S, Yamaguchi J, Ichikawa T, Miyazu M, Morshima T, Ozaki T, et al. Changes of the rotavirus concentration in faeces during the course of acute gastroenteritis as determined by the immune adherence hemagglutination test. Eur J Pediatr. 1980; 134: 99-102.
- Sato K, Inaba I, Shinozaki T, Fujii R, Matumoto M. Isolation of human rotaviruses in cell cultures. Arch Virol. 1981; 69: 155-160.
- Dennehy PH, Gauntlett DR, Spangenberg SE. Choice of reference assay for the detection of rotavirus in fecal specimens: Electron Microscopy versus Enzyme Immunoassay. J Clin Microbiol. 1990; 28: 1280-1283.
- Dennehy PH, Gauntlett DR, Tente WE. Comparison of nine commercial immunoassays for the detection of rotavirus in fecal specimens. J Clin Microbiol. 1988; 26: 1630-1634.
- Gilchrist MJR, Bretl TS, Moulthey K, Knowlton DR, Ward RL. Comparison of seven kits for detection of rotavirus in fecal specimens with a sensitive, specific enzyme immunoassay. Diagn Microbiol Infect Dis. 1987; 8: 221-228.
- Lipson SM, Zelinsky-Papez KA. Comparison of four latex agglutination (LA) and three enzyme-linked immunosorbant assays (ELISA) for the detection of rotavirus in fecal specimens. Am J Clin Path. 1989; 92: 637-643.
- Mathewson JJ, Jr Winsor DK, DuPont RL, Secor SL. Evaluation of assay systems for the detection of rotavirus in stool specimens. Diagn Microbiol Infect Dis. 1989; 12: 139-141.
- Rubenstein AS, Miller MF. Comparison of an enzyme immunoassay with electron microscopic procedures for detecting rotavirus. J Clin Microbiol. 1982; 15: 938-944.
- Thomas EE, Puterman ML, Kawano E, Curran M. Evaluation of seven immunoassays for detection of rotavirus in pediatric stool samples. J Clin Microbiol 1988; 26: 1189-1193.
- Brandt CD, Kim HW, Rodríguez WJ, Arrobio JO, Jeffries BC, Stallings EP, et al. Pediatric gastroenteritis during eight years of study. J Clin Microbiol. 1983; 18: 71-78.
- Chamapsaur J, Questiaux E, Prevot J, Henry-Amar M, Goldszmidt D, Bourjouane M, et al. Rotavirus carriage, asymptomatic infection, and disease in the first two years of life. I. Virus shedding. J Infect Dis. 1984; 149: 667-674.
- Data on file, Meridian Bioscience, Inc.



SN11240

REV. 08/23

 Manufactured By	Meridian Bioscience, Inc. 3471 River Hills Drive Cincinnati, OHIO - 45244 USA www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+1) 513.271.3700 Customer Service/Orders 800.543.1980 Technical Support Center 800.343.3858 Information Fax: 513.272.5432 Ordering Fax: 513.271.0124 E-mail: info@meridianbioscience.com
	Meridian Bioscience Europe, SRL Via Dell'Industria 7, 20035 Villa Cortese (Milano) ITALY www.meridianbioscience.com <u>Contacts:</u> Main Telephone (+39) 0331.433636 E-mail: info@meridianbioscience.eu Technical Support: MBE-TechService@meridianbioscience.eu Customer Service/Orders: • For Italian Customers: ordini@meridianbioscience.com • For Distributors / International Customers: Export.CustomerService@meridianbioscience.eu

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, Guía de símbolos, Zeichenerklärung)

	Use By / Utilizzare entro / Utiliser jusque / Fecha de caducidad / Verwendbar bis	CONTROL +	Positive control / Controllo positivo / Contrôle positif / Control positivo / Positive Kontrolle
LOT	Batch Code / Codice del lotto / Code du lot / Código de lote / chargenbezeichnung	CONTROL -	Negative control / Controllo negativo / Contrôle négatif / Control negativo / Negative Kontrolle
IVD	In vitro diagnostic medical device / Dispositivo medico-diagnostico in vitro / Dispositif médical de diagnostic in vitro / Dispositivo médico para diagnóstico in vitro / In-Vitro-Diagnostikum	EC REP	Authorized representative in the European Community / Rappresentante Autorizzato nella Comunità Europea / Mandataire dans la Communauté européenne / Representante autorizado en la Comunidad Europea / Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Meridian products carrying the European Conformity (CE) mark fulfill the requirements of Directive 98/79/EC or the Regulation 2017/746 on In-vitro diagnostic medical devices / I prodotti Meridian recanti il marchio di Conformità Europea (CE) soddisfano i requisiti della Direttiva 98/79/CE o del Regolamento 2017/746 sui dispositivi medico-diagnostici in vitro / Les produits Meridian portant la marque de Conformité européenne (CE) sont conformes aux exigences de la Directive 98/79/CE ou du Règlement 2017/746 relatifs aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Los productos de Meridian que llevan la marca de conformidad europea (CE) cumplen los requisitos de la Directiva 98/79/CE o del Reglamento 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro / Produkte von Meridian mit der CE-Kennzeichnung erfüllen die Anforderungen der EU-Richtlinie 98/79/EG bzw. der Verordnung (EU) 2017/746 über In-vitro-Diagnostika	SMP PREP DIL SPE	Sample Preparation Apparatus containing Sample Diluent / Dispositivo per la preparazione del campione contenente il diluente del campione / Système pour la préparation de l'échantillon, diluant inclus / Aparato para Preparación de Muestra con Diluyente de Muestra / System zur Probenzubereitung, in dem sich Probenverdünnungspuffer befindet
			CAUTION: Risk of Danger / ATTENZIONE: Pericolo / AVERTISSEMENT: Risques de danger / Precaución: Peligroso / WARNUNG: Risikogefahr
REF	Catalogue number / Numero di catalogo / Référence du catalogue / Numero de catálogo / Bestellnummer		Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht Eingrieren
	Consult Instructions for Use / Consultare le istruzioni per l'uso / Consulter les instructions d'utilisation / Consulte las instrucciones de uso / Gebrauchsanweisung beachten	BUF RXN	Reaction Buffer / Tampone di reazione / Solution de réaction tamponnée / Tampón de Reacción / Reaktionspuffer
	Manufacturer / Fabricante / Fabricant / Fabricante / Hersteller		For IVD Performance Evaluation Only / Soltanto per valutazione delle prestazioni / Réactifs IVD réservés à l'évaluation des performances / Sólo para evaluación del funcionamiento / Nur zur IVD Leistungsbewertung
	Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" saggi / Contenu suffisant pour "n" test / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen	SOLN STOP	Stopping Solution / Soluzione di Stop / Solution d'arrêt / Solución de parada / Stopplösung
	Temperature limitation / Limiti di temperatura / Limites de température / Limite de temperatura / Temperaturbegrenzung	CONJ ENZ	Enzyme Conjugate / Coniugato enzimatico / Conjugué enzymatique / Conjugado enzimático / Enzymkonjugat
SN	Serial number / Numero di serie / Numéro de série / Número de serie / Seriennummer	CONTROL	Assay Control / Controllo del test / Test de contrôle / Control de Ensayo / Kontrolltest
TEST	Test Device / Dispositivo test / 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 / Tampón de lavado / Waschpuffer
BUF	Buffer / Soluzione tampone / Solution tamponnée / Tampón / Puffer		Warning / Avvertenze / Mise En Garde / Advertencia / Warnhinweise
CONJ	Conjugate / Coniugato / Conjugué / Conjugado / Konjugat	DIL SPE	Specimen Diluent (or Sample Diluent) / Diluente del Campione / Diluant échantillons / Diluyente de muestra / Probenverdünnungspuffer
SUBS	Substrate / Substrato / Substrat / Substrato / Substrat	BUF WASH 20X	Wash Buffer Concentration 20X / Soluzione dil lavaggio 20X / Solution de lavage concentrée 20X / Solución tampón de lavado 20X / 20fach konzentriertes Waschkonzentrat
Rx Only	Prescription Use Only / Per l'uso su prescrizione medica / Uniquement sur prescription / Solo Para Uso Por Receta / verschreibungspflichtig	DET REAG	Detection Reagent / Reagente Diretto / Réactif de Detection / Reactivo de Detección / Nachweis Reagenz
	Do not use if package is damaged / Non utilizzare se la confezione è danneggiata / ne pas utiliser si le paquet est endommagé / No use si el paquete está dañado / Nicht verwenden, wenn die Verpackung beschädigt ist	TUBE	Empty Tube / Provetta vuota / Tube vide / Tubo vacío / Leeres Gefäß
	Single Use Only / Prodotto Monouso / A usage unique / Para Un Solo Uso / nur für die einmalige Anwendung	CH REP	Swiss Authorized Representative / Mandatario svizzero / Mandataire Suisse / Representante Autorizado Suizo / Schweizer Bevollmächtigter

For technical assistance, call Technical Support Services at (800) 343-3858 between the hours of 8AM and 6PM, USA Eastern Standard Time. To place an order, call Customer Service Department at (800) 543-1980.