

INTENDED USE

The CerTest Rotavirus-Adenovirus is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Rotavirus and/or Adenovirus in stool samples.

INTRODUCTION

Rotavirus and Adenovirus are major causes of infectious gastroenteritis in infants and young children, also observed in adults. They are transmitted by fecal-oral contact. The main symptoms of viral gastroenteritis are watery diarrhoea and vomiting. The affected person may also have headache, fever, and abdominal cramps ("stomach ache"). In general, the symptoms begin 1 to 2 days following infection with a virus that causes gastroenteritis and may last for 1 to 10 days, depending on which virus causes the illness (Rotavirus 3 days and Adenovirus 5-8 days).

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest Rotavirus-Adenovirus is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of Rotavirus and Adenovirus in feces samples. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, against viral antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-rotavirus mouse monoclonal antibodies-red microspheres and anti-adenovirus mouse monoclonal antibodies-blue microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured particles. Different coloured lines will be visible, depending upon the virus content of the sample. These lines are used to interpret the result. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

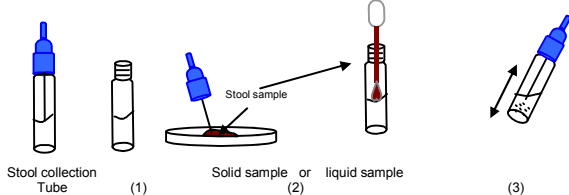
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Take out the cap of the stool collection tube.
- (2) Use the stick to pick up a little sample (approx. 100mg), if the stool sample was liquid take 100 µL using a pipette. Close the tube with the diluent and stool sample.
- (3) Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



MATERIALS PROVIDED

- Device tests (CerTest Rotavirus-Adenovirus card)
- Instructions for use
- Stool collection tubes with sample diluent

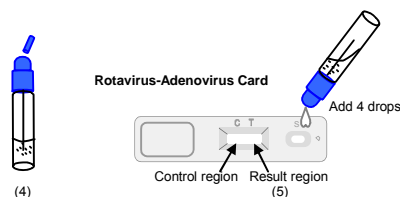
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

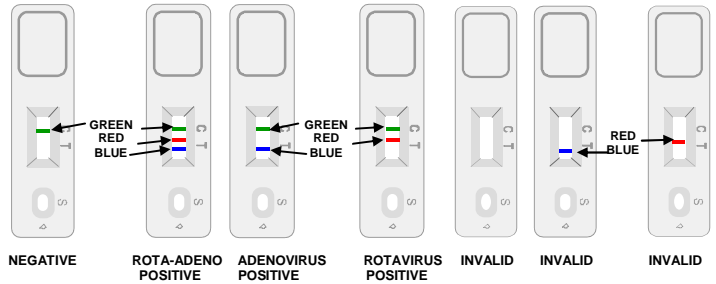
TEST PROCEDURE

Allow the test, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the cap (4).
2. Remove the CerTest Rotavirus-Adenovirus card device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense 4 drops or 100 µL into the circular window marked with an arrow (5).
- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

ROTAVIRUS POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a RED band (Rotavirus test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

ADENOVIRUS POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a BLUE band (Adenovirus test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

ROTAVIRUS-ADENOVIRUS POSITIVE: All the lines above described (a GREEN control band in the control region, a RED band and a BLUE band in the result region) could appear at the same time during the test performance due to a simultaneous infection of Rotavirus and Adenovirus.

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the results lines (RED/BLUE). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact you local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red or blue coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear).
3. After one week of infection, the number of viruses in feces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
4. This test provides a presumptive diagnosis for Rotavirus and/or Adenovirus infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

EXPECTED VALUES

Negative results are expected in healthy infants and young children, also in healthy adults.

PERFORMANCE

The evaluation was conducted comparing the results obtained using the CerTest Rotavirus-Adenovirus test to another commercial available Rotavirus-Adenovirus membrane assay.

Sensitivity

The detection of Rotavirus showed >99% of concordance in sensitivity.

The detection of Adenovirus showed > 99% of concordance in sensitivity.

Specificity

The detection of Rotavirus showed a 98% of concordance in specificity.

The detection of Adenovirus showed >99% of concordance in specificity.

The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest Rotavirus-Adenovirus test assures high degree of specificity for the detection of these viruses.

REFERENCES

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J., "Rotavirus Gene Structure and Function", *Microbiological Reviews*, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G., PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 19, 888-892

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	In vitro diagnostic device		Lot code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Sample diluent



CerTest
 BIOTEC S.L.
 C/María de Luna 11, nave 16
 E-50018 Zaragoza (SPAIN)
 www.certest.es



USO PREVISTO

CerTest Rotavirus-Adenovirus es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de Rotavirus y/o Adenovirus en heces.

INTRODUCCIÓN

Adenovirus y Rotavirus son las causas más frecuentes de gastroenteritis en niños y jóvenes, también se ha observado en adultos. Estos virus se transmiten por contacto feco-oral. Los principales síntomas de gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos. También puede presentarse con dolores de cabeza, fiebre y dolor de estómago. Por lo general los síntomas comienzan 1 ó 2 días después de infectarse y pueden durar desde 1 hasta 10 días, dependiendo del virus causante de la enfermedad (3 días para Rotavirus y 5-8 para Adenovirus).

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest Rotavirus-Adenovirus es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de Rotavirus y Adenovirus en muestras de heces. En la membrana de la zona de resultados del test previamente se fijaron anticuerpos monoclonales de ratón contra antígenos virales. Durante la prueba, la muestra reacciona con los conjugados coloreados (anticuerpos monoclonales de ratón anti-rotavirus-microesferas rojas y anticuerpos monoclonales de ratón anti-adenovirus-microesferas azules) previamente secados en la membrana del test. La muestra con las partículas coloreadas avanza por capilaridad a través de la membrana del test.

Para un resultado positivo de Rotavirus y/o Adenovirus los anticuerpos específicos presentes en la membrana capturarán las partículas coloreadas con antígenos. Pueden aparecer diferentes líneas de color en la zona de resultados dependiendo del virus presente en la muestra. Estas líneas se usan para interpretar los resultados de la prueba.

Este conjugado continúa su recorrido por la membrana hacia los anticuerpos inmovilizados en la zona de control del test, siempre tiene que aparecer una línea VERDE (línea de control). La presencia de esta línea VERDE sirve 1) para verificar que el volumen de muestra añadido ha sido suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado, 3) y como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30° C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

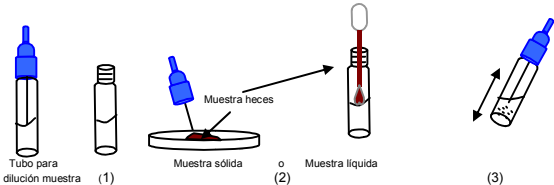
- Sólo para uso profesional in vitro.
- No usar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio y la prueba debe realizarse lo más pronto posible después de la recogida. Las muestras se deben conservar en frío (sólo 1 ó 2 días a 2-4 °C) hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20 °C. La muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

- (1) Abrir el tubo para dilución de muestra.
- (2) Con ayuda del palito se toma una muestra de las heces recogidas. Para ello se pasa el palito por la muestra recogiendo una pequeña cantidad de heces (aprox. 100mg), si la muestra fuera líquida se tomarán 100 µL de la misma con una pipeta. Se introduce el palito en el tampón cerrando el tubo.
- (3) Agitar para facilitar la dispersión de la muestra.



MATERIALES SUMINISTRADOS

- Card test (CerTest Rotavirus-Adenovirus card)
- Instrucciones de uso
- Tubos de dilución de muestras con tampón de extracción

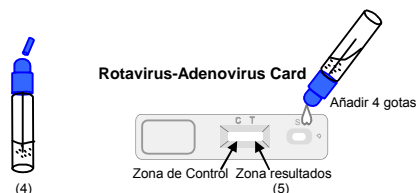
MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Recipiente para la recogida de muestra de heces
- Guantes desechables
- Cronómetro

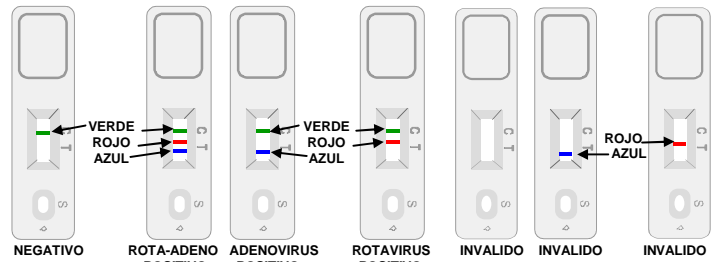
PROCEDIMIENTO

Previamente el dispositivo, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el tubo de dilución de la muestra para asegurar una buena dispersión. Cortar la punta del tapón (4).
2. Sacar el dispositivo de reacción CerTest Rotavirus-Adenovirus card de su envase para utilizarlo inmediatamente.
3. Para cada muestra o control se debe usar un tubo de dilución de la muestra y un dispositivo diferente. Tomar 4 gotas o 100 µL del líquido y depositarlas en la ventana circular marcada con una flecha o una S en el dispositivo (5).
4. Leer el resultado a los **10 minutos** (las líneas coloreadas aparecen).



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



NEGATIVO: Una sola línea de color VERDE aparece en la ventana central del dispositivo de reacción, en la zona marcada con la letra C (línea de control).

ROTAVIRUS POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea ROJA (línea de resultado de Rotavirus) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

ADENOVIRUS POSITIVO: Además de la línea de control VERDE, también aparece una línea AZUL (línea de resultado de Adenovirus) en la zona marcada con la letra T (zona de resultado).

ROTAVIRUS-ADENOVIRUS POSITIVO: Todas las líneas anteriores aparecen al mismo tiempo durante la prueba debido a una infección simultánea de Rotavirus y Adenovirus. Se vería una línea VERDE en la zona de control y una línea ROJA y una AZUL en la zona de resultado.

INVÁLIDO: Cuando la línea de control (VERDE) no aparece independientemente de que aparezca o no una o las dos líneas de resultado (ROJA y/o AZUL). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: una cantidad insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisarse el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo dispositivo de reacción. Si persistiese el problema, debe contactar con su proveedor y dejar de utilizar la prueba.

OBSERVACIONES

La intensidad de la/s línea/s roja y/o azul en la zona de resultados puede variar dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos puede ser determinada por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

El control interno de funcionamiento viene incluido en la prueba. La línea verde que aparece en la zona de control (C) es el control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

1. Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
2. Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico.
3. Después de una semana de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
4. Esta prueba diagnóstica una posible infección de Rotavirus y/o Adenovirus, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas.

VALORES PREVISTOS

Se esperan resultados negativos en niños y jóvenes sanos, así como en adultos libres de infección.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Se han realizado estudios y evaluaciones para comparar la eficacia del test. CerTest Rotavirus-Adenovirus se evaluó en paralelo con un test rápido del mercado para detección de Rotavirus y Adenovirus.

Sensibilidad

La detección de Rotavirus presenta >99% de concordancia en sensibilidad. La detección de Adenovirus presenta >99% de concordancia en sensibilidad.

Especificidad

La detección de Rotavirus presenta un 98% de concordancia en especificidad. La detección de Adenovirus presenta >99% de concordancia en especificidad.

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en el diseño de CerTest Rotavirus-Adenovirus asegura un alto grado de especificidad para la detección de estos virus.

BIBLIOGRAFÍA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J., "Rotavirus Gene Structure and Function", *Microbiological Reviews*, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G., PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 19, 888-892

SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

	Producto para diagnóstico in vitro		Número de lote
	Consultar las instrucciones de uso		Número de referencia
	Almacenar en lugar seco		Contiene <n> test
	Limitación de temperatura		Fabricante
	Fecha de caducidad		Tampón de extracción