

NADAL® Rota-Adenovirus Test (test cassette)

REF 481015



de	Gebrauchsanweisung	2	pt	Instruções de Utilização	22
en	Instructions for use	6	cs	Návod k použití	26
fr	Instructions d'utilisation	10	fi	Käyttöohje	34
es	Instrucciones de uso	14	no	Bruksanvisning	38
it	Istruzioni per l'uso	18		Symbols	43
pl	Sposób użycia	20		Our Teams	44



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12
47445 Moers
Germany

Moers
Tel: +49 (2841) 99820-0
Fax: +49 (2841) 99820-1

Regensburg
Tel: +49 941 29010-0
Fax: +49 941 29010-50

www.nal-vonminden.com
info@nal-vonminden.com

Directors:
Sandra von Minden
Roland Meißner
Thomas Zander

Commercial reg. Kleve
HRB 5679
Steuer-Nr. 244/133/00130
UST-ID-Nr. DE 189 016 086

1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist ein schneller visuell auswertbarer Immunassay für den qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren in humanen Stuhlproben. Der Test sollte als Hilfsmittel zur Diagnose von Rota- und Adenovirusinfektionen eingesetzt werden. Er ist für die *in-vitro* diagnostische Anwendung durch professionelle Anwender ausgelegt.

2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Rotaviren sind die häufigste Ursache für akute Gastroenteritis, besonders bei kleineren Kindern. Ihre Entdeckung und die Beschreibung des Zusammenhangs mit der Gastroenteritis bei Kleinkindern im Jahr 1973 stellte einen wichtigen Fortschritt für die Untersuchung nicht bakteriell verursachter Gastroenteritiden dar. Die Infektion mit Rotaviren erfolgt in der Regel oral-fäkal. Die Inkubationszeit beträgt 1-3 Tage. Auch wenn Stuhlproben, die während des zweiten bis fünften Tages nach Krankheitsausbruch entnommen werden, für den Antigennachweis besonders geeignet sind, sind Rotaviren auch noch nachweisbar, solange der Durchfall anhält. Bei Risikogruppen wie Säuglingen, älteren Menschen oder immungeschwächten Personen kann die Infektion einen tödlichen Verlauf nehmen. In den gemäßigten Klimazonen treten Rotavirusinfektionen hauptsächlich während der Wintermonate auf. Sowohl Endemien als auch Epidemien mit einigen tausend Betroffenen wurden beobachtet. Bei ca. 50% der Kinder, die mit einer akuten Gastroenteritis stationär behandelt wurden, konnten Rotaviren nachgewiesen werden. Die Viren replizieren sich im Zellkern und rufen einen charakteristischen cytopathischen Effekt (CPE) hervor. Da Rotaviren in Zellkulturen extrem schwer anzuzüchten sind, ist eine Isolierung des Virus für diagnostische Zwecke unüblich. Stattdessen wurden verschiedene andere Techniken entwickelt, die einen Nachweis von Rotaviren in Stuhlproben ermöglichen.

Akute Durchfallerkrankungen bei Kleinkindern sind eine der Hauptursachen für Morbidität weltweit und eine der häufigsten Ursachen für Sterblichkeit in Entwicklungsländern. Die Forschung hat gezeigt, dass enterale Adenoviren (wie Ad40 und Ad41) nach den Rotaviren am häufigsten Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen. Diese viralen Pathogene wurden in der ganzen Welt identifiziert und können ganzjährig Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen. Am häufigsten treten Infektionen bei Kindern unter zwei Jahren auf, es können jedoch Patienten jeder Altersgruppe betroffen sein. Weitere Studien haben gezeigt, dass Adenoviren mit ca. 4-15% aller hospitalisierten Fällen von viralen Gastroenteritiden verbunden sind. Eine schnelle und genaue Diagnose von Adenovirus bei Gastroenteritis ist für das Patientenmanagement und die ätiologische Aufklärung von Gastroenteritis hilfreich. Andere diagnostische Methoden wie Elektronenmikroskopie (EM) oder Nukleinsäurehybridisierung sind teuer und arbeitsintensiv. Da Adenovirusinfektionen in der Regel selbstlimitierend verlaufen, sind derartige Untersuchungen meist nicht erforderlich.

3. Testprinzip

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist für den qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren durch visuelle

Interpretation der Farbentwicklung im internen Streifen bestimmt.

Der Test weist Rotaviren bzw. Adenoviren mit Hilfe spezifischer Antikörper nach. Nach Zugabe der Probe (in Puffer verdünnter Stuhl) binden farbmarkierte Antikörper spezifisch an das jeweilige Virus, wenn es in der Probe vorliegt. Durch Kapillarkraft wandern die Virus-Antikörper-Komplexe die Membran entlang. Dort werden sie mit Hilfe weiterer spezifischer Antikörper gegen Rotavirus bzw. Adenovirus in den entsprechenden Testlinienbereichen abgefangen. Liegen Rotaviren in der Probe vor, bildet sich eine rote Testlinie neben der Beschriftung R aus. Liegen Adenoviren vor, erscheint eine rote Testlinie neben der Beschriftung A. Liegen beide Viren vor (Mischinfektion) werden beide Linien ausgeprägt. Liegen keine Rota- oder Adenoviren in der Stuhlprobe vor, können die farbmarkierten Antikörper an die virusspezifischen Antikörper in den Testlinienbereichen nicht binden. Es werden keine roten Linien ausgebildet. Die Anwesenheit einer roten Testlinie zeigt also ein positives Testergebnis an, wohingegen ihre Abwesenheit ein negatives Testergebnis anzeigt.

Als Kontrolle für eine korrekte Testdurchführung erscheint in der Kontrollregion C immer eine rote Linie. Diese zeigt an, dass das Probenvolumen ausreichend war und eine vollständige Benetzung der Membran mit der Flüssigkeit stattgefunden hat.

4. Bestandteile der Testpackung

- 10 einzeln versiegelte NADAL® Rota-Adenovirus Testkassetten
- 10 Probenahmeröhrchen mit Verdünnungspuffer für die Probenahme und -verdünnung
- 10 Einwegpipetten für die Entnahme extrem dünnflüssigen Probenmaterials
- 1 Gebrauchsanweisung

5. Zusätzlich benötigte Materialien

Patient:

Hilfsmittel zum Sammeln einer Stuhlprobe. Dabei muss sichergestellt sein, dass die Probe keinen Kontakt zum Wasser der Toilettenschüssel hat, um eine Verdünnung bzw. eine Verunreinigung mit z.B. Reinigungsmitteln zu vermeiden. Auf Nachfrage können spezielle Stuhlfänger von der Firma nal von minden GmbH bezogen werden.

Arztpraxis oder Labor:

- Saugfähiges Papier zum Abbrechen der Spitze des Probenahmeröhrchens
- Timer

6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Der Test sollte in der Verpackung entweder bei Raumtemperatur oder gekühlt (2-30°C) gelagert werden. Unter diesen Bedingungen sind Testkassetten und Puffer bis zu dem angegebenen Verfallsdatum stabil. Die Testkassetten sollten bis zur Anwendung zusammen mit dem Trockenmittel in dem versiegelten Schutzbeutel verbleiben.

Nicht einfrieren.

Nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.

7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Nur für den *in-vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender.
- Für den einmaligen Gebrauch. Tests nicht wieder verwenden.
- Reagenzien unterschiedlicher Kits nicht mischen oder austauschen.
- Test nicht benutzen, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Test nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z.B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Vermeiden Sie eine Kreuzkontamination der Proben, indem Sie für jede Probe einen neuen Probenbehälter verwenden.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit den Proben oder Tests umgegangen wird. Während des gesamten Tests bewährte Vorsichtsmaßnahmen gegen mikrobiologische Gefahren beachten und bei der Probenentsorgung Standardverfahren einhalten. Tragen Sie Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe oder Schutzbrille, wenn Proben getestet werden.
- Der Verdünnungspuffer enthält geringe Mengen Natriumazid, das mit Blei- oder Kupferrohren reagieren und explosive Metallazide bilden kann. Spülen Sie bei der Entsorgung der Extraktionslösung und der extrahierten Proben über den Abfluss immer mit reichlich Wasser nach, um eine Azidbildung zu verhindern.
- Feuchtigkeit und Temperatur können das Testergebnis negativ beeinträchtigen.
- Von den Testkomponenten (z. B. Antikörper, Chemikalien) geht bei sachgerechter Anwendung keine Gefahr aus.
- Bitte folgen Sie den Anweisungen der Anleitung genau. Informieren Sie ihre Patienten gründlich, wie das Sammeln der Stuhlprobe und die Verdünnung erfolgen soll.

8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Bedingungen für eine optimale Probennahme

Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist nur für den Gebrauch mit humanen Stuhlproben geeignet, die in dem mitgelieferten Puffer verdünnt wurden.

Der Virusnachweis gelingt am besten, wenn die Probe kurz nach dem Einsetzen der Krankheitssymptome genommen wird. Die maximale Ausscheidung von Rotaviren im Stuhl von Patienten mit Gastroenteritis erfolgt zwischen dem 2. und 5. Tag nach Einsetzen der Krankheitssymptome. Für Adenoviren ist die maximale Ausscheidung 3 bis 13 Tage nach Krankheitsausbruch am stärksten. Wenn Proben erst sehr spät nach Einsetzen von Durchfall gesammelt werden, ist es möglich, dass die Antigenmenge für eine positive Reaktion nicht ausreichend ist oder dass Antigene nachgewiesen werden, die nicht mit der Durchfallerkrankung im Zusammenhang stehen.

Stuhlproben sollten sofort nach der Entnahme bei 2-8°C gelagert und innerhalb von 48 Stunden untersucht oder eingefroren bei -20°C gelagert werden. Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden.

Probennahme und Aufbereitung durch den Patienten

Für die Probennahme erhält der Patient ein Probenahmeröhrchen und eine Einwegpipette. Bitte weisen Sie den Patienten an, die Stuhlprobe wie folgt zu entnehmen:

1. Jeder saubere und trockene Behälter oder auch wasserabweisendes Papier kann für die Probennahme verwendet werden. Bitte stellen Sie sicher, dass die Stuhlprobe nicht mit dem Wasser der Toilettenschüssel in Berührung kommt, um eine Verdünnung der Stuhlprobe oder eine Verunreinigung mit z. B. Reinigungsmitteln zu vermeiden. 1-2 mL bzw. 1-2 g Stuhl reichen aus.
2. Geben Sie eine kleine Menge der Stuhlprobe in das Probenahmeröhrchen:



Bei festen Stuhlproben:

Schrauben Sie den Deckel des Probenahmeröhrchens ab. Stechen Sie den Spiralstab an drei verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe und nehmen Sie auf diese Weise ca. 50 mg Stuhl auf (dies entspricht ungefähr ¼ Erbe).



Bei flüssigen Stuhlproben:

Wenn der Stuhl zu dünnflüssig ist, um am Spiralstab hängen zu bleiben, verwenden Sie bitte die beigegefügte Einwegpipette. Halten Sie die Pipette senkrecht, saugen Sie ein wenig Stuhl auf und überführen Sie zwei Tropfen (ungefähr 50 µL) in das Probenahmeröhrchen mit dem Verdünnungspuffer.



3. Geben Sie den Spiralstab zurück ins Röhrchen und verschließen Sie dieses fest.
4. Schütteln Sie das Probenahmeröhrchen, damit sich Stuhlprobe und Puffer gut vermischen. Seien Sie vorsichtig, dass die Spitze des Röhrchens nicht abbricht.
5. Geben Sie das Röhrchen in eine Plastiktüte und lagern Sie es an einem kühlen Ort. Bringen Sie die Probe innerhalb der nächsten 24 Stunden zu Ihrer Arztpraxis.

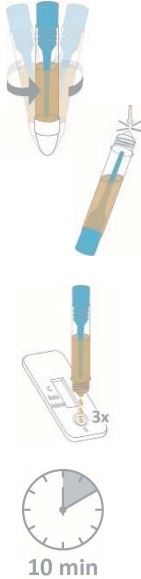


Hinweis:

Wenn sich der Patient bei der Verdünnung der Stuhlprobe in das Probenahmeröhrchen unsicher fühlt, kann er auch eine unbehandelte Stuhlprobe in der Arztpraxis abgeben. Der Transfer der Probe in den Puffer des Röhrchens kann dann wie oben beschrieben vom Personal der Arztpraxis oder des Labors durchgeführt werden.

9. Testdurchführung

1. Bringen Sie die versiegelte Testkassette und die Patientenprobe vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (15-30°C).
 2. Entnehmen Sie die Testkassette erst aus dem Beutel, wenn Sie bereit sind, den Test durchzuführen. Die Testkassette sollte Raumtemperatur haben, um eine Kondensation von Feuchtigkeit auf der Membran zu vermeiden. Kennzeichen ist die Testkassette für Identifikationszwecke mit einer Patienten- oder Kontrollnummer.
 3. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen gründlich, um eine einwandfreie Flüssigkeitsmischung der Stuhlprobe mit der Pufferlösung sicherzustellen.
 4. Brechen Sie mit Hilfe eines saugfähigen Papiers die Spitze des Deckels ab.
 5. Halten Sie das Röhrchen senkrecht und geben Sie 2-3 Tropfen der Flüssigkeit in die runde Probenvertiefung (S) der Testkassette, indem Sie einen leichten Druck auf die Wände des Röhrchens ausüben. Luftblasen in der Probenvertiefung (S) oder Spritzer in das rechteckige Ergebnisfenster sollten vermieden werden.
 6. Starten Sie den Timer. Sie können zu Beginn des Testablaufs beobachten, wie die rötlich gefärbte Flüssigkeitsfront die Membran hoch wandert.
- Warten Sie bis die farbige(n) Linie(n) erscheinen. Das Ergebnis sollte nach 10 Minuten abgelesen werden. Stark positive Ergebnisse können eventuell schon eher sichtbar sein. Bitte lesen Sie das Ergebnis nicht später als 20 Minuten nach Probenzugabe ab.



schwach gefärbte Testlinien sollten deswegen als positives Ergebnis gewertet werden. Bitte versuchen Sie nicht über die Farbintensität der Linien die Antigenmenge zu quantifizieren. Der Test ist als qualitativer Test ausgelegt.

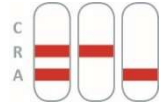
Negatives Ergebnis:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). In den Testlinienbereichen für Rotavirus (R) bzw. Adenovirus (A) sind keine Linien zu erkennen.



Ungültiges Testergebnis

Die Kontrolllinie wird nicht ausgebildet. Ergebnisse von Tests, bei denen die Kontrolllinie nicht innerhalb der vorgegebenen Zeit erscheint, dürfen nicht ausgewertet werden.



Die häufigsten Ursachen für eine fehlende Kontrolllinie sind unzureichendes Probenvolumen, unzureichende Migration der Probe oder Fehler in der Testdurchführung. Überprüfen Sie die Durchführung auf mögliche Fehler und wiederholen Sie den Test. Wenn das Laufverhalten durch sichtbare Partikel im Probenmaterial behindert wird, sollten diese vorher durch Zentrifugation oder Sedimentation entfernt werden. Überführen Sie einen Teil der Probe in ein neues Röhrchen, sedimentieren Sie die Partikel durch eine kurze Zentrifugation und pipettieren Sie 80-120 µL des Überstands in die Probenvertiefung einer neuen Testkassette. Alternativ kann das Röhrchen in aufrechter Position für eine Zeit gelagert werden, bis sich die Partikel abgesetzt haben. Anschließend werden 80-120 µL von der Oberfläche der Flüssigkeit für die Testung entnommen. Wenn das Problem bestehen bleibt, sollten Sie den Test vorerst nicht weiter benutzen und Ihren Distributor kontaktieren.

Hinweis:

Beim Testen verdünnter Stuhlproben kann der Hintergrund aufgrund der Eigenfärbung des Stuhls gelblich erscheinen. Solange die Farbe das Ablesen des Ergebnisses nicht behindert, ist dies akzeptabel. Der Test ist ungültig, wenn der Hintergrund nicht klar wird und das Ablesen des Testergebnisses beeinträchtigt.

11. Qualitätskontrolle

Die Testkassette beinhaltet eine interne Verfahrenskontrolle. Eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C) zeigt an, dass der Test richtig durchgeführt wurde. Ihr Erscheinen bestätigt ein ausreichendes Probenvolumen, eine vollständige Benetzung der Membran und eine korrekte Testdurchführung.

12. Grenzen des Tests

- Der NADAL® Rota-Adenovirus Test ist nur für den *in-vitro* diagnostischen Gebrauch durch professionelle Anwender ausgelegt und sollte ausschließlich für den qualitativen Nachweis von Rota- und Adenoviren verwendet werden.
- Wie bei allen Schnelltests sollte das Testergebnis nicht als alleinige Grundlage einer Diagnose dienen, sondern sollte vor dem Hintergrund aller klinischen Befunde und Untersuchungsdaten durch einen Arzt bewertet und ggf. durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

10. Testauswertung

Um das Testergebnis abzulesen, werten Sie bitte die farbigen Linien aus, die im Testfenster erschienen sind:

Positives Testergebnis für Rotavirus, Adenovirus oder beide Viren

Positiv für Rotavirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich für Rotavirus (R).



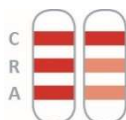
Positiv für Adenovirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Eine weitere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich für Adenovirus (A).



Positiv für Rotavirus und Adenovirus:

Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C). Es erscheint jeweils eine farbige Linie in den Testlinienbereichen für Rotavirus (R) bzw. Adenovirus (A).



Hinweis:

Die Farbintensität der Testlinien (R/A) hängt von der Antigenkonzentration in dem Probenmaterial ab. Auch

- Hält im Falle eines negativen Testergebnisses die klinische Symptomatik an, sollten zusätzlich andere klinische Methoden zur Abklärung verwendet werden. Ein negatives Testergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit einer Rota- oder Adenovirusinfektion aus.
- Ein positives Testergebnis bei Neugeborenen muss durch eine alternative Testmethode (PCR) bestätigt werden, um Pseudoausbrüche („pseudo-outbreaks“) zu verhindern.
- Bei sichtbarem Blut in Stuhlproben können falsch-positive Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden und müssen daher mit einer alternativen Testmethode überprüft werden.

13. Leistungsmerkmale des Tests

Die Leistung des NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Adenovirus) wurde mit 210 klinischen Proben von Kindern und jungen Erwachsenen im Vergleich zum ELISA bewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relative Sensitivität: >98,8%

Relative Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >99,5%

Die Leistung des NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Rotavirus) wurde mit 242 klinischen Proben von Kindern und jungen Erwachsenen im Vergleich zum ELISA bewertet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relative Sensitivität: >96,3%

Relative Spezifität: >99,9%

Gesamtübereinstimmung: >98,8%

Kreuzreaktivität

Die Kreuzreaktivität mit unten aufgelisteten Organismen wurde mit einer Konzentration von $1,0 \times 10^9$ Organismen/mL untersucht. Diese Proben wurden mit dem NADAL® Rota-Adenovirus Test getestet und für negativ befunden.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Group C <i>Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Gardnerella vaginalis

Group B *Streptococcus*

Salmonella choleraesuis

Staphylococcus aureus

14. Referenzen

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelm I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 OM

1. Intended Use

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is a rapid visual immune-assay for the qualitative detection of rotavirus and adenovirus in human faecal specimens. This test is intended to be used as an aid in the diagnosis of rotavirus and adenovirus infections. The test is designed for professional *in-vitro* diagnostic use only.

2. Introduction and Clinical Significances

Rotavirus is the most common pathogen responsible for acute gastroenteritis, mainly in young children. Its discovery in 1973 and association with infantile gastroenteritis represented a very important advancement in the study of acute non-bacterial gastroenteritis. Rotavirus is transmitted by the oro-faecal route with an incubation period of 1-3 days. Although specimens collected between the second and the fifth day of illness are ideal for antigen detection, rotavirus may still be detected while diarrhoea continues. Rotaviral gastroenteritis may result in mortality for populations at risk such as infants, the elderly and immunocompromised patients. In moderate climates, rotaviral infections occur mainly in the winter months. Endemics and epidemics affecting thousands of people have been reported. Up to 50% of the analysed specimens from hospitalised children suffering from acute enteric disease were positive for rotavirus. The viruses replicate in the cell nucleus and tend to produce a characteristic cytopathic effect (CPE). Because rotavirus is extremely difficult to culture, it is unusual to isolate the virus for the diagnosis of infection. Instead, a variety of techniques have been developed to detect rotavirus in feces.

Acute diarrheal disease in young children is a major cause of morbidity worldwide and is a leading cause of mortality in developing countries. Research has shown that enteric adenoviruses, such as Ad40 and Ad41, are also one of the primary causes of diarrhoea in children, second only to rotaviruses. These viral pathogens have been identified throughout the world and can cause diarrhoea in children all year round. Infections are most frequently seen in children less than two years of age, but have also been found in patients of all ages. Further studies indicate that adenoviruses are associated with 4-15% of all hospitalized cases of viral gastroenteritis.

Rapid and accurate diagnosis of gastroenteritis caused by adenovirus is helpful in establishing the etiology of gastroenteritis and related patient management. Other diagnostic techniques such as electron microscopy (EM) and nucleic acid hybridization are expensive and labor-intensive. Due to the self-limited nature of adenoviral infection, such expensive and labor-intensive tests may not be necessary.

3. Test Principle

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is designed to detect rotavirus and adenovirus through visual interpretation of color development in the internal strip.

In this assay Rotavirus and Adenovirus are detected with the aid of specific antibodies. After the addition of sample (feces diluted in buffer) the color-labelled antibodies will specifically bind to the respective virus if it is present in the sample. When these antibody-virus complexes migrate along the membrane by capillary action, they are captured by another antibody

specific against Rotavirus or Adenovirus in the test line regions for the respective virus. If rotavirus is present in the sample a red test line is developed in the "R" marked region. If adenovirus is present in the sample a red test line will develop in the "A" marked region. If both viruses are present (mixed infection) two test lines will develop. If no virus is present, the color-labelled antibody will not bind to the virus specific antibodies in the test line regions. No red test lines are formed. So the presence of a red test line indicates a positive result, while its absence indicates a negative result.

To serve as a procedural control, a red line will always develop in the control line region indicating that proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

4. Reagents and Materials Supplied

- 10 individually pouched NADAL® Rota-Adenovirus test cassettes
- 10 specimen collection tubes with specimen diluent buffer for sample collection and dilution
- 10 disposable pipettes for sample collection of extremely liquid specimen
- 1 package insert

5. Additional Materials Required

Patient:

- Means to collect a stool sample.
It should be ensured that samples have no contact with the water in the toilet bowl in order to avoid dilution or contamination with e. g. detergents. Special stool collection units can be provided by nal von minden GmbH on request.

Clinic or lab:

- Tissue paper for breaking the tip of the specimen collection tube
- Timer

6. Storage & Stability

Store the test as packaged either at room temperature or refrigerated (2-30°C).

Under these conditions the test cassette and specimen diluent buffer are stable until the expiration date. The test cassette should remain in the sealed pouch containing a desiccant until use.

Do not freeze.

Do not use beyond the expiration date.

7. Warnings and Precautions

- For *in-vitro* diagnostic use by professionals only.
- For single use. Do not reuse tests.
- Do not interchange or mix reagents from different lots.
- Do not use the test if its foil pouch is damaged.
- Do not use the test after the expiration date.
- This test contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious and handled by observing usual safety precautions (e.g. do not ingest or inhale).

- Avoid cross-contamination of specimens by using a new specimen collection container for each specimen obtained.
- Do not eat, drink or smoke in the area where the specimens or kits are handled. Protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection are recommended. Observe established precautions against microbiological hazards throughout testing. Follow standard procedures for proper disposal of specimens in accordance with local regulations.
- The specimen diluent buffer contains a small amount of sodium azide which may react with lead or copper plumbing to form potentially explosive metal azides. When disposing of extraction solution or extracted samples, always flush with copious quantities of water to prevent azide buildup.
- Humidity and temperature can adversely affect results.
- The components of the test (e.g. antibodies/chemicals) do not cause any danger if the test is used according to the instructions.
- Follow the instructions for use carefully. Inform the patients of the procedures of the collection and dilution of the stool sample.

8. Specimen Collection and Preparation

Conditions for optimal sample collection

The NADAL® Rota-Adenovirus Test is only intended for use with human faecal specimen that has been diluted in the provided buffer.

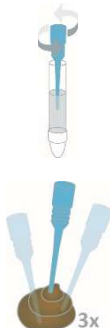
Viral detection is facilitated by collecting specimens at the onset of diarrheic symptoms. It has been reported that the maximum excretion of rotavirus in the feces of patients with gastroenteritis occurs 2-5 days after the onset of symptoms. For adenovirus maximum excretion is about 3-13 days after onset of symptoms. If the specimens are collected long after the onset of diarrheic symptoms, the quantity of antigen may not be sufficient to obtain a positive result or the antigens detected may not be linked to the diarrheic episode.

Stool samples should be stored at 2-8°C immediately after collection and processed within 48 hours. Longer storage is possible at -20°C. Repeated freezing and thawing of samples should be avoided.

Specimen collection and preparation by the patient

For stool sample collection, the patient is given one of the specimen collection tubes of the test set and a disposable pipette. Stool sample should be collected in the following way:

1. Any clean and dry container or water repellent paper can be used for sample collection. Ensure that the stool sample has no direct contact with the water of the toilet bowl to avoid dilution or contamination with detergents. An amount of 1-2 mL or 1-2 g stool is sufficient.
2. Transfer a small amount of the stool into the specimen collection tube:



For solid specimens:

Unscrew the cap of the specimen collection tube, then randomly stab the specimen collection applicator in at least 3 different sites of the faecal specimen to collect

approximately 50 mg of feces (equivalent to 1/4 of a pea).

For liquid specimens:

If the stool is too liquid to stick to the applicator, the provided disposable pipette can be used. Hold the pipette vertically, aspirate some stool, and then transfer 2 drops (approximately 50 µL) into the specimen collection tube containing the diluent buffer.

3. Place the applicator back into the tube and screw the cap tightly.
4. Shake the specimen collection tube to mix the specimen and the dilution buffer. Be careful not to break the tip of the collection tube.
5. Wrap the specimen collection tube in a plastic bag. Store it in a cool place and return it to the clinic within 24 hours.

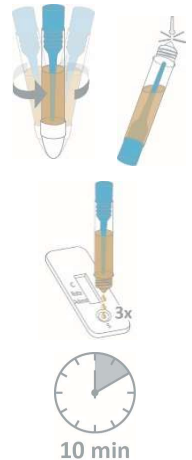


Note:

If the patient feels uncomfortable to dilute the stool specimen in the collection tube himself, he may return a container with the unprocessed stool sample to the clinic. The transfer of the specimen into the buffer of the specimen collection tube can then be carried out as described above by the personnel of the clinic or lab.

9. Test Procedure

1. Allow the test device and the diluted stool sample to reach room temperature (15-30°C) prior to testing.
2. Remove the test cassette from its pouch when ready to perform the test. The test cassette must be at room temperature to prevent condensation of moisture on the membrane. Label the test cassette on the provided space with patient or control identification.
3. Shake the collection tube thoroughly to ensure proper mixing of the faecal sample with the diluent buffer.
4. Using a piece of tissue paper, break the tip of the collection tube with a twisting motion.
5. Hold the collection tube vertically and dispense 2-3 drops of solution into the round sample well (S) of the test cassette by applying a gentle pressure to the walls of the tube. Avoid air bubbles in the sample well or splashes of liquid into the rectangular result window.
6. Start the timer. As the test begins to work, a reddish colored liquid front will be seen moving across the membrane.



Wait for the colored line(s) to appear. The result should be read after 10 minutes. Strong positive results may be observed sooner. Do not interpret the result after 20 minutes.

10. Result Interpretation

For reading of the test results, the colored lines that develop in the test result window are interpreted.

Positive result for Rotavirus, Adenovirus or both viruses

Rotavirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and another colored line develops in test line region for Rotavirus (R).



Adenovirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and another colored line develops in test line region for Adenovirus (A).



Rotavirus and Adenovirus Positive:

A colored line develops in the control line region (C) and two other colored lines develop in the test line regions for Rotavirus (R) and Adenovirus (A), respectively.



Note:

The intensity of the color in the test line regions (R/A) may vary depending on the concentration of the target antigens present in the specimen. Therefore, any shade of color in the test region should be considered positive. Besides, the amount of virus can not be determined by this qualitative test.

Negative result:

One colored line develops in the control line region (C). No line develops in the test line regions for Rotavirus and Adenovirus.



Invalid result:

The control line (C) fails to develop. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded. Please review the procedure and repeat with a new test. If the problem persists, discontinue using the test set immediately and contact your distributor.



Insufficient specimen volume, insufficient specimen migration, or incorrect procedural techniques are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the presence of visible particles inhibited the specimen migration, they should be removed by centrifugation or sedimentation. Transfer a part of the sample into a tube, sediment the particles by a brief centrifugation and pipette approximately 80-120 µL of the supernatant into the sample well of a new test cassette. Alternatively allow the particles to settle in the upright specimen collection tube and use 80-120 µL from the topside of the liquid. If the problem persists, discontinue using the test immediately and contact your local distributor.

Note: When faecal samples are tested, the background may appear slightly yellowish due to the color of the faecal samples. This is acceptable as long as it does not interfere with

the interpretation of the test result. The test is invalid if the background fails to clear and obscures the reading of the result.

11. Quality Control

An internal procedural control is included in the test cassette. A colored line appearing in the control line region (C) is an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

12. Limitations

- The NADAL® Rota-Adenovirus Test is for professional *in-vitro* diagnostic use, and should be used for qualitative detection of rotavirus and adenovirus only.
- As with all diagnostic tests, a definitive clinical diagnosis should not be based on the result of a single test, but should be made by the physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.
- If the test result is negative but clinical symptoms persist, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of rotavirus or adenovirus infection.
- In order to prevent pseudo-outbreaks, positive test results in newborns must be confirmed using an alternative testing method (PCR).
- If visible blood is present in faecal specimens, false-positive results cannot be ruled out and must therefore be verified using an alternative test method.

13. Performance Characteristics

The performance of the NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) has been evaluated with 210 clinical specimens collected from children and young adults in comparison with ELISA. The results are summarised in the following table:

Table: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relative sensitivity: >98.8%

Relative specificity: >99.9%

Overall agreement: >99.5%

The performance of the NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) has been evaluated with 242 clinical specimens collected from children and young adults in comparison with ELISA. The results are summarised in the following table:

Table: NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relative sensitivity: >96.3%

Relative specificity: >99.9%

Overall agreement: >98.8%

Cross-reactivity

Cross-reactivity with the organisms listed below has been studied at 1.0×10^9 organisms/mL. These samples were found negative when tested with the NADAL® Rota-Adenovirus Test.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. References

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 FS

1. Domaine d'application

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est un immunodosage rapide à interprétation visuelle pour la détection qualitative de rotavirus et d'adénovirus dans les selles humaines. Ce test doit être utilisé comme aide au diagnostic d'infections à rotavirus ou adénovirus. Il est conçu pour le diagnostic *in-vitro* par des professionnels.

2. Introduction et signification diagnostique

Les rotavirus sont la cause la plus fréquente de gastro-entérite aiguë surtout chez les enfants en bas âge. Leur découverte et la description de leur rapport à la gastro-entérite chez les enfants en bas âge en 1973 représenta une avancée importante pour l'analyse de gastro-entérites non bactériennes. L'infection à rotavirus se fait en général par voie orale. Le temps d'incubation est de 1-3 jours. Les selles recueillies dans les deux à cinq jours après l'apparition de la maladie sont particulièrement adaptées à la recherche antigénique même si les rotavirus peuvent être détectés encore plus tard. L'infection peut prendre une tournure mortelle pour les groupes à risque comme les nourrissons, les personnes âgées ou les sujets immunodéprimés. Dans les zones tempérées, les infections à rotavirus apparaissent surtout pendant les mois d'hiver. Des endémies ainsi que des épidémies avec quelques milliers de personnes atteintes ont été observées. Des rotavirus ont été détectés dans 50% des cas d'enfants traités en hôpital avec une gastro-entérite aiguë. Les virus se multiplient dans le nucléus, ont des hôtes bien spécifiques et provoquent un effet cytopathique caractéristique (CPE). Comme il est extrêmement difficile d'obtenir des rotavirus par culture cellulaire, il est impossible d'isoler le virus pour le diagnostiquer. Au lieu de cela, des techniques différentes ont été développées afin de permettre la détection des rotavirus dans les selles.

Après les rotavirus, les adénovirus (principalement Ad40 et Ad41) provoquent le plus fréquemment des diarrhées chez les enfants. Dans les pays en voie de développement, les diarrhées aiguës représentent l'une des causes majeures de mortalité infantile. Les infections touchent le plus souvent des enfants de moins de deux ans mais elles peuvent cependant toucher des patients de toutes les classes d'âges. Des études ont montré qu'environ 4-15% de toutes les gastro-entérites virales traitées en hôpital sont associées à des adénovirus. Un diagnostic rapide et précis d'adénovirus en cas de gastro-entérites est une aide pour la gestion des patients et l'étiologie de la maladie. D'autres méthodes diagnostiques comme la microscopie électronique ou l'hybridation moléculaire sont très coûteuses et demandent beaucoup de travail. Comme les infections à adénovirus sont en général à guérison spontanée, des examens de ce type ne sont souvent pas nécessaires.

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est un test rapide pour la détection qualitative simultanée des rotavirus et/ou d'adénovirus. Le résultat du test peut être lu après 10 minutes.

3. Principe du test

Le test NADAL® Rota-Adenovirus permet la détection des rotavirus et adénovirus par l'interprétation du développement de lignes colorées.

Le test détecte les rotavirus et les adénovirus à l'aide d'anticorps spécifiques. Après l'ajout de l'échantillon (selles diluées dans une solution tampon), des anticorps colorés spécifiques à chacun des virus se lient lorsque ceux-ci sont présents dans l'échantillon. Les complexes virus-anticorps migrent le long de la membrane par capillarité. Ils sont alors interceptés sur la zone de test correspondante à l'aide d'autres anticorps spécifiques aux rotavirus ou aux adénovirus. Si des rotavirus sont présents dans l'échantillon, une ligne rouge apparaît à côté de l'inscription R. Si des adénovirus sont présents, une ligne rouge apparaît à côté de l'inscription A. Si les deux virus sont présents (infection croisée), les deux lignes apparaissent. Si aucun rotavirus ou adénovirus n'est présent dans les selles, les anticorps colorés ne peuvent pas se lier dans les zones de test. Aucune ligne rouge n'apparaît. La présence d'une ligne de test rouge indique alors un résultat positif, tandis que son absence indique un résultat négatif.

Pour contrôler l'exécution parfaite du test, une ligne rouge apparaît toujours dans la zone de contrôle C. Celle-ci indique que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a complètement été imbibée du fluide.

4. Réactifs et matériel fournis

- 10 cassettes NADAL® Rota-Adenovirus emballées individuellement
- 10 tubes collecteurs avec solution tampon pour le recueil et la dilution des échantillons
- 10 pipettes à usage unique pour le recueil d'échantillons trop liquides.
- 1 notice d'utilisation

5. Matériel supplémentaire nécessaire

Patient :

Aide pour la collecte des selles. Il faut s'assurer ici que l'échantillon n'a pas été en contact avec l'eau des toilettes pour éviter sa dilution ou sa contamination avec des produits d'entretien. Sur demande, il est possible d'obtenir des collecteurs de selles spéciaux auprès de la société nal von minden GmbH.

Cabinet médical ou laboratoire :

- Papier absorbant pour casser le bout du tube de collecte de l'échantillon
- Chronomètre

6. Conservation et stockage des réactifs

Le kit doit être conservé dans son emballage à température ambiante ou au réfrigérateur (2-30°C).

Dans ces conditions, les cassettes et les solutions tampons restent stables jusqu'à la date de péremption. Les cassettes doivent rester emballées avec l'agent déshydratant jusqu'à leur utilisation.

Ne pas congeler.

Ne pas utiliser après expiration de la date limite de conservation.

7. Avertissements et précautions

- Uniquement pour une utilisation diagnostique *in-vitro* par des professionnels.
- Usage unique. Ne pas réutiliser les tests.

- Ne pas mélanger ou échanger des réactifs de kits différents.
- Ne pas utiliser le test si son emballage est endommagé.
- Ne pas utiliser après expiration de la date limite de conservation.
- Ce kit contient des produits d'origine animale. Les connaissances certifiées de l'origine et / ou de l'état sanitaire des animaux ne garantissent pas totalement l'absence d'agents pathogènes transmissibles. Il est donc recommandé de considérer ces produits comme potentiellement infectieux et de les traiter selon les consignes de sécurité habituelles (par exemple, éviter l'ingestion ou l'inhalation).
- Pour chaque échantillon de selles, utiliser un nouveau collecteur de selles afin d'éviter une contamination croisée.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone où les échantillons sont manipulés. Des vêtements de protection comme une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection sont nécessaires. Respecter les mesures de précautions relatives à la manipulation de matières biologiques dangereuses et prendre des mesures préventives adéquates pour l'élimination selon les directives régionales.
- La solution d'extraction contient de l'azoture de sodium en petite quantité, ce qui peut réagir avec du plomb ou du cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Toujours rincer la solution d'extraction avant de la jeter, ainsi que les échantillons prélevés, et ce, avec beaucoup d'eau afin d'éviter l'accumulation d'azides
- L'humidité et la température peuvent altérer le résultat du test.
- Les composants du test (les anticorps, les produits chimiques) ne représentent aucun danger si leur utilisation est conforme.
- Suivre scrupuleusement les instructions de la notice. Expliquer précisément aux patients comment recueillir et diluer les selles.

8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Conditions pour un recueil optimal des échantillons

Le test NADAL® Rota-Adenovirus est conçu uniquement pour une utilisation avec des selles humaines diluées avec le tampon fourni.

La détection du virus réussit au mieux lorsque l'échantillon a été recueilli juste après l'apparition des symptômes de la maladie. L'élimination maximale des rotavirus se fait entre le 2ème et le 5ème jour après l'apparition des symptômes de la maladie. Pour les adénovirus, l'élimination est plus forte 3 à 13 jours après l'apparition de la maladie. Lorsque les échantillons sont recueillis longtemps après l'apparition des symptômes, il est possible que la quantité d'antigènes ne soit pas suffisante pour une réaction positive ou que des antigènes sans rapport avec la diarrhée soient détectés.

Les selles doivent être conservées à 2-8°C immédiatement après leur collecte et analysées dans les 48 h ou congelées à -20°C. Il est déconseillé de congeler et décongeler les échantillons de manière répétitive afin d'éviter des résultats erronés.

Recueil et préparation de l'échantillon par le patient

Pour le recueil de l'échantillon, le patient reçoit un tube collecteur et une pipette à usage unique. Le patient doit absolument recueillir les selles de la manière suivante:

1. Tout récipient ou papier hydrofuge propre et sec peut servir au recueil de l'échantillon. S'assurer que les selles n'entrent pas en contact avec l'eau de la cuvette des toilettes afin d'éviter une dilution des selles ou leur contamination par des produits d'entretien. 1-2 mL ou 1-2 g de selles suffisent.
2. Déposer un peu de selles dans le tube collecteur:



Pour des selles solides :

Dévisser le couvercle du tube collecteur. Piquer les selles en trois endroits différents avec la spirale et recueillir ainsi environ 50 mg de selles (cela correspond à ¼ de petit pois).



Pour des selles liquides :

Si les selles sont trop fluides pour rester collées à la spirale, utiliser la pipette à usage unique fournie. Maintenir la pipette à la verticale, aspirer un peu de selles et transférer deux gouttes (environ 50 µL) dans le tube collecteur avec la solution tampon.



3. Remettre la spirale dans le tube et bien refermer celui-ci.
4. Secouer le tube collecteur pour que les selles et le tampon se mélangent bien. Attention: ne pas casser le bout du tube.
5. Mettre le tube dans un sac plastique et le conserver dans un endroit frais (réfrigérateur). Amener l'échantillon au cabinet médical dans les 24 heures.

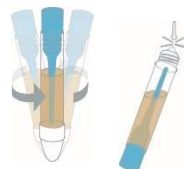


Remarque :

Si le patient ne se sent pas capable de diluer les selles dans le tube collecteur, il peut aussi amener des selles non traitées au cabinet de son médecin. Le transfert de l'échantillon dans le tampon du tube peut alors être effectué comme ci-dessus par le personnel du cabinet médical ou du laboratoire.

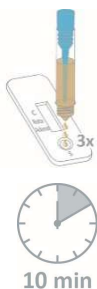
9. Exécution du test

1. Avant de débiter le test, amener la cassette emballée et l'échantillon du patient à température ambiante (15°C à 30°C).
2. Sortir la cassette de son emballage juste avant de procéder au test. La cassette doit être à température ambiante afin d'éviter une condensation de l'humidité sur la membrane. Indiquer un numéro de patient ou de contrôle sur la cassette pour pouvoir l'identifier.
3. Bien secouer le tube collecteur pour garantir un mélange parfait des selles et de la solution tampon.
4. Casser le bout du tube à l'aide d'un papier absorbant.



5. Maintenir le tube à la verticale et mettre 2-3 gouttes du liquide dans le puits de dépôt (S) de la cassette en exerçant une petite pression sur les côtés du tube. Il faut éviter la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt ou des éclaboussures dans la fenêtre de résultat rectangulaire.

6. Lancer le chronométrage. Il est possible d'observer la migration du fluide rouge le long de la membrane. Attendre jusqu'à l'apparition de la/des ligne(s) colorée(s). Lire le résultat après 10 minutes. Les résultats fortement positifs peuvent éventuellement être lus bien avant. Ne plus lire le résultat après plus de 20 minutes après l'ajout de l'échantillon.



10. Interprétation des résultats

Pour pouvoir lire le résultat, évaluer les lignes colorées qui apparaissent dans la fenêtre de résultat :

Résultat positif pour le rotavirus, l'adénovirus ou les deux

Positif pour rotavirus:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Une autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test pour rotavirus (R).



Positif pour adénovirus:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Une autre ligne de couleur apparaît dans la zone de test pour adénovirus (A).



Positif pour rotavirus et adénovirus :

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Deux autres lignes de couleur apparaissent dans les zones de test pour rotavirus (R) et adénovirus (A).



Remarque:

L'intensité de la couleur des lignes de test (R/A) dépend de la concentration en antigène de l'échantillon. Pour cette raison, même des lignes de test peu colorées doivent être interprétées comme résultat positif. Ne pas essayer de quantifier la concentration en antigène à partir de l'intensité de la couleur. Il s'agit d'un test qualitatif.

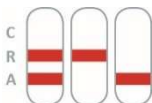
Résultat négatif:

Une ligne de couleur apparaît dans la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît dans la zone R ni dans la zone A.



Résultat non-valide:

La ligne de contrôle n'apparaît pas. Les résultats de tests dont la ligne de contrôle n'apparaît pas dans la période donnée ne peuvent pas être interprétés.



Les causes les plus courantes de l'absence de la ligne de contrôle sont un volume d'échantillon insuffisant, une migration trop faible de l'échantillon ou une erreur dans l'exécution du test. Vérifier l'exécution en recherchant les éventuelles erreurs et recommencer le test. Si le déroulement du test est perturbé par des particules visibles dans l'échantillon, il faut les séparer par centrifugation ou par sédimentation. Transférer une partie de l'échantillon dans un nouveau tube, faire sédimenter les particules par une courte centrifugation et pipeter 80-120 µL de la couche supérieure dans une nouvelle cassette. Autrement, il est aussi possible de maintenir le tube debout pour un certain temps, jusqu'à ce que les particules se déposent. Ensuite, 80-120 µL de la surface du fluide sont recueillis pour le test. Si le problème persiste, ne plus utiliser le kit et contacter le fournisseur.

Remarque:

Lors du test sur des selles diluées, le fond de la membrane peut sembler jaunâtre en raison de la propre couleur des selles. C'est acceptable tant que la coloration ne gêne pas la lecture du résultat. Le test est non-valide lorsque le fond n'est plus clair et que les lignes du test sont recouvertes.

11. Contrôle qualité

Le test comporte un contrôle de procédé interne. Une ligne de couleur apparaissant dans la zone de contrôle (C) indique que le test a été réalisé correctement. Son apparition confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la membrane a été entièrement imbibée et que le test a été exécuté correctement.

12. Limites du test

- Le test NADAL® Rota-Adenovirus est conçu pour une utilisation diagnostique *in-vitro* par des professionnels et doit être uniquement utilisé pour une détection qualitative de rotavirus et d'adénovirus.
- Comme pour tout test rapide, le résultat de test ne doit pas être le seul fondement d'un diagnostic, il doit être évalué par un médecin avec l'appui de toutes les connaissances cliniques et données d'analyses et éventuellement confirmé par d'autres analyses.
- Si les symptômes cliniques disparaissent en présence d'un résultat négatif, il faut employer d'autres méthodes cliniques pour vérifier ce dernier. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection à rotavirus ou à adénovirus.
- Pour éviter une pseudo-épidémie, faire confirmer les résultats positifs obtenus sur les nouveau-nés par une méthode alternative (PCR).
- Si du sang est visible dans les échantillons de selles, un résultat faussement positif doit être envisagé. Dans ce cas, les résultats doivent être confirmés à l'aide d'une méthode alternative.

13. Performance du test

La performance du test NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus) a été calculée en comparant les résultats de 210 échantillons cliniques d'enfants et d'adolescents avec les résultats de la méthode ELISA. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau: Le test NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus) contre ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adénovirus)		
		+	-	total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	total	82	128	210

Sensibilité relative : >98,8%

Spécificité relative : >99,9%

Conformité générale : >99,5%

La performance du test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) a été calculée en comparant les résultats de 242 échantillons cliniques d'enfants et d'adolescents avec les résultats de la méthode ELISA. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant

Tableau: Le test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) contre ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	total	79	163	242

Sensibilité relative : >96,3%

Spécificité relative : >99,9%

Conformité générale : >98,8%

Réactions croisées

La réaction croisée a été étudiée en analysant les organismes suivants à une concentration de $1,0 \times 10^9$ organismes/mL. Ces échantillons ont été analysés avec le test NADAL® Rota-Adenovirus et ont tous fournis des résultats négatifs.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E.coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliographie

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411-1413

Rev. 2, 2019-05-23 AS

1. Uso previsto

El test rápido NADAL® Rota-Adenovirus para muestras fecales es un inmunoensayo para la detección cualitativa de rotavirus y/o adenovirus en muestras fecales humanas. Este test sirve como ayuda en el diagnóstico de infección por rotavirus y adenovirus y está diseñado sólo para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*.

2. Introducción y significado clínico

El Rotavirus es el agente comúnmente de gastroenteritis aguda, principalmente en niños. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantil representó un importante avance en el estudio de gastroenteritis por infección bacterial aguda. El Rotavirus se transmite vía oral-fecal con un periodo de incubación de 1-3 días. Aunque lo ideal para la detección del antígeno es el análisis de muestras tomadas entre el segundo y quinto día de la enfermedad, el rotavirus puede todavía ser encontrado mientras los episodios de diarrea continúan. La gastroenteritis rota viral puede resultar mortal para poblaciones de riesgo como niños, ancianos y pacientes inmunocomprometidos. La infección por rotavirus suele desarrollarse durante los meses de invierno. Se estima que la epidemia y epidemia afectan a miles de personas. El 50% de las muestras analizadas procedentes de niños hospitalizados por enfermedad aguda resultaron positivos en rotavirus. El virus se duplica en el núcleo de la célula y tienden a alojar especies específicas produciendo un efecto citopático característico (EPC). Debido a la extrema dificultad para el cultivo de rotavirus, no es usual el aislamiento del virus para el diagnóstico de la infección. En su lugar, se han desarrollado una gran variedad de técnicas para detectar rotavirus en muestras fecales.

El Adenovirus es otro agente común causante de gastroenteritis. La enfermedad aguda por diarrea en niños es causa de morbilidad en todo el mundo y una de las principales causas de mortalidad en países desarrollados. Varios estudios han revelado que algunos adenovirus específicos, primordialmente Ad40 y Ad41, son la principal causa de diarrea en muchos niños, después de rotavirus. Estos patógenos virales han sido aislados a través del mundo, y pueden causar diarrea en niños de todo el mundo. Este tipo de infecciones se suelen dar frecuentemente en niños menores de 2 años de edad, pero también se han encontrado en pacientes de todas las edades. Algunos estudios indican que los adenovirus se encuentran asociados con un 4-15% de todos los casos hospitalizados de gastroenteritis viral.

Un diagnóstico rápido y adecuado de gastroenteritis producida por adenovirus es imprescindible para establecer la etiología de gastroenteritis y el tratamiento del paciente. Otras técnicas de diagnóstico como el microscopio electrónico (ME) y el análisis de ácidos nucleicos por hibridación son costosos además de requerir un largo procedimiento. Debido a la naturaleza auto-limitada de la infección por adenovirus, tales procedimientos pueden no ser necesarios.

El test rápido NADAL® Rota-Adenovirus es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa y simultánea de rotavirus y/o adenovirus en muestras fecales humanas, obteniendo resultados en 10 minutos. El test utiliza anticuerpo

específico para rotavirus y adenovirus para detectar selectivamente los virus en muestras fecales humanas.

3. Principio del test

El test NADAL® Rota-Adenovirus es un inmunoensayo de flujo lateral y cualitativo para la detección de Rotavirus y/o Adenovirus en muestras fecales humanas.

En este test el rotavirus se detecta con la ayuda de anticuerpos específicos contra rotavirus mientras que el adenovirus es detectado con la ayuda de anticuerpos específicos contra adenovirus. Después de añadir la muestra (heces diluidas en el búfer) los anticuerpos específicamente etiquetados de color se ligan al respectivo virus si éste se encuentra presente en la muestra. Cuando este complejo migra a través de la membrana por acción capilar, es capturado con ayuda de otro anticuerpo específico contra rotavirus o adenovirus en la línea de resultado del test para el respectivo virus. Si el rotavirus está presente en la muestra, una línea de test roja aparecerá próxima a la R. Si el adenovirus está presente en la muestra una línea de test roja aparecerá próxima a A. Si ambos virus están presentes (infección mixta) aparecerán dos líneas de test. Si no hay ningún virus presente en la muestra entonces los anticuerpos etiquetados de color no podrán ligarse a la línea de test de resultado, y por tanto no se formará línea de test de color roja. Por ello, la presencia de una línea de test coloreada indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo.

Como control de procedimiento, aparecerá siempre una línea de color siempre en la zona de control indicando que se ha añadido un volumen adecuado de muestra y que el test funciona correctamente.

4. Reactivos y materiales provistos

- 10 test NADAL® Rota-Adenovirus formato casete empaquetados individualmente.
- 10 tubos para la recolección de la muestra y solución de búfer, para la recolección de la misma y su disolución.
- 10 pipetas desechables para la recolección de muestras extremadamente líquidas.
- Manual de instrucciones

5. Otros materiales necesarios

Paciente:

Instrumento para recoger la muestra fecal de manera que no entre en contacto con el agua del inodoro. Bajo petición, pueden ser suministrados por nal von minden GmbH.

Consulta del doctor o laboratorio:

- Papel higiénico para romper la punta del tubo con el búfer.
- Cronómetro

6. Almacenamiento y conservación

Almacenar el test tal y como viene empaquetado a temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C). Bajo estas condiciones, el test y el búfer se mantendrán estables hasta la fecha de caducidad. El test debe permanecer en la bolsa de aluminio cerrada herméticamente la cual contiene una bolsa antihumedad.

No congelar.

No usar después de la fecha de caducidad.

7. Advertencias y precauciones

- Solo para diagnóstico profesional *in-vitro*.
- Lea detenidamente las instrucciones de uso antes de realizar el test.
- No utilice el test una vez expirada la fecha de caducidad.
- No utilice el test si su envoltorio está dañado. No reutilice el test.
- Utilice un nuevo recipiente de recogida para cada muestra.
- No coma, beba o fume en ninguna de las zonas donde se realizará el test. Manipule todas las muestras como si se trataran de agentes infecciosos. Tenga en cuenta las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes. Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen muestras.
- Sólo abra la envoltura del test cuando vaya a realizarlo.
- La solución de extracción contiene una pequeña cantidad de ácido de sodio que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías y formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Así pues, cuando se deshaga de la solución de extracción o muestras extraídas, enjuague siempre con abundante cantidad de agua para evitar la acumulación de azida.
- No intercambie nimezcle los reactivos de diversos lotes.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados del test.
- Los materiales usados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Este kit contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado de origen y/o el estado sanitario de los animales no garantiza por completo la ausencia de agentes patógenos transmisibles. Por ello, se recomienda que trate estos productos como potencialmente infecciosos y los manipule según las precauciones de seguridad habituales (por ejemplo, no ingerir o inhalar).
- Los pacientes deben seguir las instrucciones de uso para obtener una muestra exacta. No tome la muestra en ninguno de estos casos: durante la menstruación (o 3 días antes o después), en caso de hemorroides sangrantes o sangrado causado por el estreñimiento. Tampoco tome la muestra si el paciente se está administrando medicamentos rectales.
- El alcohol, la aspirina u otros medicamentos tomados en exceso pueden causar irritación gastrointestinal resultando en sangrado oculto. Estas sustancias deben suspenderse al menos 48 horas antes de la realización del test.
- No es necesario que el paciente lleve a cabo una dieta específica antes de la realización del test.

8. Toma de muestras y preparación

Condiciones para una óptima recolección de la muestra.

El test NADAL® Rota-Adenovirus está diseñado para utilizarlo con muestras fecales humanas que hayan sido diluidas en el búfer suministrado.

La detección del virus resulta más fácil si las muestras se recogen en el momento en el que aparecen los síntomas. Se ha demostrado que la mayor excreción de rotavirus en las heces de los pacientes con gastroenteritis se da 2-5 días

después de la aparición de los síntomas. La excreción de adenovirus es aproximadamente 3-13 días después de la aparición de los síntomas. Si las muestras se recogen mucho más tarde de la aparición de los síntomas diarreicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados pueden no estar ligados a los episodios diarreicos.

Las muestras fecales deben almacenarse a 2-8°C inmediatamente tras su recolección y procesarse en las siguientes 48 horas. Para un almacenamiento más prolongado conservar a -20°C. Debe evitarse congelar y descongelar las muestras.

Recolección y preparación de la muestra por el paciente.

Para la recolección de la muestra fecal se le entregará al paciente un tubo de recolección de muestras y una pipeta desechable. Por favor informar al cliente de que debe recoger la muestra de la siguiente manera:

1. Para la recolección de la muestra, utilizar un recipiente o papel resistente al agua limpio y seco. Por favor asegúrese de que la deposición fecal para la muestra no tome contacto directo con el agua de la taza del váter para evitar su disolución o la contaminación con detergentes. Es suficiente una cantidad de 1-2 mL o 1-2 g de deposición fecal.
2. Transfiera una pequeña cantidad de deposición fecal al tubo de recolección.

Para muestras sólidas:

Desenroscar la tapa del tubo de recolección de la muestra, y punce la muestra al menos en 3 partes diferentes de forma aleatoria con el aplicador de recolección para recoger aproximadamente 50 mg de deposición fecal (equivalente a 1/4 de una pieza)



Para muestras líquidas:

Si la deposición fecal es demasiado líquida para punzar con el aplicador utilice la pipeta desechable suministrada. Mantenga la pipeta vertical y aspire un poco de deposición fecal. Añadir 2 gotas (aproximadamente 50 µL) en el tubo de recolección de la muestra que contiene la disolución del búfer.



3. Vuelva a colocar el aplicador en el tubo y enrosque el capuchón.
4. Agite el tubo de recolección para que la muestra y la disolución del búfer quede bien mezclada. Tenga cuidado para que la punta del tubo de recolección no se rompa.
5. Envuelva la muestra en una bolsa de plástico y consérvela en un lugar frío. Lleve la muestra a la consulta de su médico dentro de las próximas 24 horas.



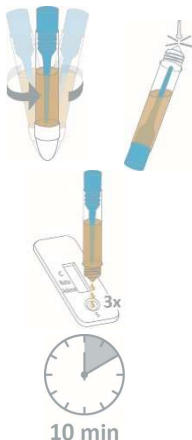
Nota:

Si el paciente no desea diluir la muestra de deposición fecal en el tubo de recolección, éste debe llevar el recipiente con la muestra de deposición fecal no procesada a la consulta del médico. El proceso de transferir la muestra en el búfer del tubo puede ser llevada a cabo como se ha descrito

anteriormente por el personal de la consulta del médico o por el laboratorio.

9. Procedimiento del test

1. Permitir que el dispositivo del test y a la muestra diluida alcancen la temperatura ambiente antes de realizar el test (15-30°C).
2. Sacar el dispositivo del test de su envoltorio cuando esté preparado para realizar el test. El dispositivo debe estar a temperatura ambiente para evitar la condensación de humedad en la membrana. Etiquetar el dispositivo en el espacio indicado con la identificación del paciente.
3. Agitar el tubo de la muestra para asegurar que la muestra fecal se mezcla con la solución.
4. Usando un trozo de papel, romper la punta del tubo recolector girándolo.
5. Mantener el tubo en posición vertical y poner de 2 a 3 gotas de la solución en el pocillo del dispositivo del test aplicando presión en la barrera del tubo. Evitar que se formen burbujas de aire en el pocillo o que salpique líquido en la ventana de resultados del test.
6. Activar el cronómetro. Cuando el test empiece su proceso usted podrá ver un líquido rojizo moviéndose a través de la membrana.



Esperar a que aparezcan las líneas de colores. El resultado debería poder ser leído después de unos 10 minutos. No interpretar los resultados transcurridos 20 minutos.

10. Interpretación de resultados

Para leer el resultado del test, deben interpretarse las líneas coloreadas que aparecen en la ventana de resultado.

Resultado positivo para rotavirus, adenovirus o ambos

Rotavirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otra línea de color aparece en la línea de test para Rotavirus (R).



Adenovirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otra en la línea de test para Adenovirus (A).



Rotavirus y Adenovirus positivo:

Una línea de color aparece en la línea de control (C) y otras dos en las líneas de resultado para Rotavirus (R) y para Adenovirus (A) respectivamente.



Nota:

La intensidad de color en la línea de la zona de test (Rota/Adeno) puede variar dependiendo de la concentración de las sustancias mencionadas presentes en la muestra. Por lo

tanto, una sombra de color en la línea de la zona de test debe ser considerado como un resultado positivo. Por otro lado, el nivel de las sustancias puede no ser determinado por este test cualitativo.

Resultado negativo:

Una línea de color aparece en la zona de control (C), y ninguna línea en la zona test de Rotavirus o Adenovirus.



Resultado no válido:

La línea de control (C) no aparece. Los resultados de cualquier test en el que no aparezca la línea de control en el momento de interpretar los resultados deben ser descartados. Por favor, revisar el procedimiento y realizar un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests incluidos en el mismo kit y contacte con su distribuidor local.



Las principales causas por las que la línea de control no suele aparecer son un volumen insuficiente de muestra, una migración inadecuada por dicha insuficiencia, o que se han empleado técnicas de procedimiento incorrectas. Revisar el procedimiento y repetir el test con un nuevo dispositivo. Si la presencia de partículas visibles inhibe la migración, éstas pueden ser aclaradas por centrifugación o sedimentación. Transferir una parte de la muestra al tubo, sedimentar las partículas mediante una breve centrifugación y añadir con la pipeta aproximadamente 80-120 µL del sobrenadante en la parte correspondiente del test del nuevo dispositivo. De forma alternativa, permitir que las partículas se depositen en el tubo vertical y usar 80-120 µL de la parte superior del líquido. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests del kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.

Nota:

Cuando las muestras fecales se analizan, el fondo puede aparecer ligeramente amarillo debido al color de la muestra fecal. Esto no es ningún problema siempre y cuando no interfiera en la interpretación del resultado del test.

11. Control de calidad

Se incluye un procedimiento de control interno en el test. Si aparece una línea de color en la zona de control (C), ello implicará un procedimiento de control interno positivo. Ello confirmará que se ha empleado suficiente volumen de muestra, que la reacción de la membrana ha funcionado correctamente así como que las técnicas de procedimiento han sido adecuadas.

12. Limitaciones

- El test NADAL® Rota-Adenovirus en muestra fecal es para uso profesional de diagnóstico *in-vitro*, y debe ser utilizado solo para la detección cualitativa de Adenovirus y Rotavirus.
- Como todos los tests de diagnóstico, un diagnóstico clínico definitivo no debe basarse en un solo test, sino que debe ser confirmado por un experto tras haber evaluado otros métodos de laboratorio.
- Si el resultado del test es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda el uso de otros métodos de análisis clínicos adicionales. Un resultado negativo no



excluye la posibilidad de una infección por rotavirus o adenovirus con una baja concentración de partículas de virus.

- Para prevenir los pseudobrotes, los resultados positivos en recién nacidos deben confirmarse utilizando un método de test alternativo (PCR).
- Si las muestras fecales presentan sangre visible, no se pueden descartar resultados falsos positivos, y por lo tanto deben verificarse utilizando métodos de test alternativos.

13. Características de rendimiento

Se ha evaluado el rendimiento del test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) con 210 muestras clínicas recolectadas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método ELISA. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla: test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) frente a ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	total	82	128	210

Sensibilidad relativa: >98,8%

Especificidad relativa: >99,9%

Concordancia general: >99,5%

Se ha evaluado el rendimiento del test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) con 242 muestras clínicas recolectadas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método ELISA. Los resultados se muestran en la siguiente tabla:

Tabla: test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) frente a ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	total	79	163	242

Sensibilidad relativa: >96,3%

Especificidad relativa: >99,9%

Fiabilidad media: >98,8%

Reactividad cruzada

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 1,0 x 10⁹ organismos/mL. A continuación se muestran los organismos que resultaron negativos con el test NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Streptococcus</i> grupo C
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>

<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Streptococcus</i> grupo B	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografía

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 IA

1. Uso Previsto

Il test NADAL® Rota-Adenovirus (feci) è un test rapido immunologico visivo per la determinazione qualitativa del rotavirus e dell'adenovirus in campioni di feci. Il test è un aiuto alla diagnosi di infezioni da rotavirus e adenovirus. Riservato alla diagnostica *in-vitro* e ad un uso esclusivamente professionale.

2. Introduzione e Significato Clinico

Il Rotavirus è il più comune agente responsabile di gastroenterite acuta, soprattutto nei bambini. La sua scoperta nel 1973 e la sua associazione alla gastroenterite infantile rappresentò un importante progresso degli studi sulla gastroenterite non causata da acute infezioni batteriche. Il Rotavirus è trasmesso per via orale o fecale con un periodo di incubazione di 1-3 giorni. Nonostante la raccolta del campione nel secondo e quinto giorno della malattia sia ideale per la rilevazione dell'antigene, il rotavirus potrebbe essere individuato anche mentre gli episodi di diarrea continuano. La gastroenterite da rotavirus potrebbe essere mortale per le popolazioni a rischio come i bambini, gli anziani e i pazienti immunocompromessi. Nelle zone con clima mite, le infezioni da Rotavirus si sviluppano principalmente nei mesi invernali. Il numero delle persone che viene affetto dall'endemia e dall'epidemia si aggira, come stimato, intorno al migliaio. Il 50% dei campioni analizzati prelevati da bambini ricoverati per gastroenterite acuta, sono risultati positivi al rotavirus. I virus si moltiplicano nei nuclei cellulari e tendono ad essere ospitati da diverse specie specifiche producendo caratteristici effetti citopatici (CPE). Siccome il rotavirus è estremamente difficile da coltivare, non viene utilizzato l'isolamento del virus per diagnosticare l'infezione. Una varietà di tecniche invece è stata sviluppata per la rilevazione del virus nelle feci.

Gli Adenovirus sono un altro agente responsabile della gastroenterite. Episodi di diarrea acuta nei bambini sono una delle maggiori cause di morbidità e di mortalità nei paesi in via di sviluppo. Studi dimostrano che gli adenovirus, principalmente Ad 40 e Ad 41, sono la causa principale di diarrea in molti di questi bambini, la seconda dopo il rotavirus. I patogeni virali sono stati isolati in tutto il mondo e possono causare diarrea nei bambini durante tutto l'anno. Le infezioni sono più frequenti nei bambini di età inferiore a 2 anni, ma sono state riscontrate anche in pazienti di tutte le età. Ulteriori studi dimostrano che gli adenovirus sono associati per il 4-15% a tutti i casi di ricovero per gastroenterite virale. Una diagnosi rapida ed accurata della gastroenterite dovuta ad adenovirus è utile ad individuare la causa della gastroenterite e a stabilire la cura del paziente. Altre tecniche di diagnostica come il microscopio elettronico (EM) e l'ibridazione molecolare sono costose e richiedono un lavoro intensivo di laboratorio. Per la natura autolimitante delle infezioni da adenovirus, queste costose tecniche di laboratorio non sono necessarie.

Il test NADAL® Rota-Adenovirus è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione simultanea e qualitativa del rotavirus e/o adenovirus in campioni di feci umane e fornisce risultati in 10 minuti. Il test utilizza anticorpi specifici per il rotavirus e l'adenovirus in modo da rilevare in modo distinto i due virus in campioni di feci umane.

3. Principio del Test

Il test NADAL® Rota-Adenovirus è un test immunologico a flusso laterale per la rilevazione qualitativa del rotavirus e dell'adenovirus in campioni di feci umane.

Il test rileva gli adenovirus e i rotavirus grazie all'aiuto di anticorpi specifici. Dopo l'aggiunta del campione (feci diluite nel tampone di diluizione fornito) gli anticorpi specifici colorati si legano rispettivamente al proprio virus, se presente nel campione. Il complesso anticorpi-virus migra per effetto capillare lungo la membrana. Il complesso viene, allora, intercettato da altri anticorpi anti-adenovirus e anti-rotavirus sulle rispettive linee del test. Se il rotavirus è presente in quantità sufficiente nel campione, si forma una linea rossa a livello della scritta (R). Se è presente l'adenovirus nel campione, si forma una linea rossa a livello della scritta (A). Se entrambe i virus sono presenti nel campione (infezione mista), tutte e due le linee si colorano di rosso. Quando non è presente nessuno dei due virus, gli anticorpi marcati non possono legarsi a livello delle linee del test. Non appare nessuna linea rossa. La presenza di una linea rossa indica, dunque, un risultato positivo, mentre l'assenza della linea indica un risultato negativo.

La comparsa di una linea colorata nella zona di controllo (C) è da considerarsi come controllo interno positivo della procedura. Questo controllo positivo indica che è stata utilizzata una quantità sufficiente di campione e che la procedura del test è stata seguita correttamente.

4. Reagenti e Materiali Forniti

- 10 test a cassetta NADAL® Rota-Adenovirus confezionati singolarmente
- 10 tubi di prelievo e tampone di diluizione per la raccolta e diluizione del campione.
- 10 contagocce per la raccolta di campioni estremamente liquidi.
- 1 Istruzioni per l'uso.

5. Altri materiali necessari

Paziente :

Raccogliere il campione facendo attenzione che non entri in contatto con l'acqua di scarico. La nal von minden GmbH può fornire su richiesta dispositivi di raccolta del campione specifici.

Ambulatorio o laboratorio :

- Carta assorbente per rompere la punta del tampone di raccolta.
- Timer

6. Conservazione e stabilità

Il kit deve essere conservato nella sua confezione a temperatura ambiente o refrigerato (2-30°C). In questo modo, il test a cassetta ed il tampone di diluizione restano stabili fino alla data di scadenza. Il test deve essere conservato nella sua confezione, contenente un dissecante, fino al suo utilizzo.

Non congelare.

Non utilizzare oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.

7. Avvertenze e precauzioni

- Solo per uso diagnostico *in-vitro*.

- Test monouso. Non riutilizzare il test.
- Non intercambiare o mescolare i reagenti di lotti differenti.
- Non utilizzare dopo la data di scadenza indicata.
- Non utilizzare il test se la confezione è danneggiata.
- Utilizzare tutti i test come potenzialmente infettivi. Non mangiare, bere o fumare in prossimità dei luoghi in cui i campioni e i test vengono manipolati. Indossare guanti, camice ed occhiali di protezione durante l'esecuzione del test. Prendere le misure di precauzione necessarie contro i rischi microbiologici e seguire le procedure di eliminazione dei campioni.
- Il tampone di diluizione contiene basse quantità di acido sodico.
- Proteggere il test dal calore e dall'umidità.
- I componenti del test (es. anticorpi/agenti chimici) non causano alcun pericolo se il test viene utilizzato seguendo le istruzioni.
- Seguire attentamente le istruzioni per l'uso. Informare i pazienti riguardo le corrette procedure di raccolta del campione.

8. Raccolta e preparazione del campione

Condizioni per la raccolta ottimale del campione

Il test NADAL® Rota-Adenovirus deve essere utilizzato solo con campioni di feci umane che siano stati diluiti con la soluzione di diluizione fornita.

L'individuazione del virus è migliore se i campioni vengono raccolti al momento della comparsa dei sintomi. È stato dimostrato che la massima presenza del rotavirus nelle feci dei pazienti con gastroenterite si verifica in 3-5 giorni dopo l'apparizione dei sintomi. Per l'adenovirus la massima espulsione avviene circa 3-13 giorni dopo la comparsa dei sintomi. Se il campione di feci è raccolto molto dopo la comparsa dei sintomi, i livelli dell'antigene potrebbero non essere alti abbastanza per un risultato positivo o gli antigeni rilevati potrebbero non essere associati all'episodio di diarrea.

I campioni di feci devono essere immediatamente refrigerati a 2-8°C ed esaminati entro 48 ore. È possibile una conservazione più lunga a -20°C. Il congelamento e lo scongelamento ripetuti dei campioni sono da evitare.

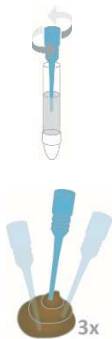
Raccolta e preparazione del campione ad opera del paziente

Per la raccolta del campione di feci, consegnare al cliente uno dei tubi per la raccolta del campione e un contagocce (inclusi nella confezione). Consigliare al paziente di raccogliere il campione di feci nel seguente modo:

1. Qualsiasi recipiente asciutto o qualsiasi cartone idrofugo possono essere utilizzati per la raccolta del campione. Assicurarsi che il campione di feci non entri in contatto con l'acqua di scarico, al fine di evitare una diluizione o una contaminazione con i prodotti domestici contenuti nell'acqua. 1-2 mL o 1-2 g di campione di feci sono sufficienti.
2. Prelevare una piccola quantità di feci con l'aiuto di un contagocce.

Campioni solidi:

Svitare il bastoncino del tubo di diluizione. Piantare il bastoncino in 3



angoli differenti delle feci al fine di raccogliere circa 50 mg di feci.

Campione liquido:

Se il campione è troppo liquido per il bastoncino di prelievo, utilizzare il contagocce per raccogliere il campione di feci liquide e depositare 2 gocce (circa 50 µL) nel tubo di diluizione contenente la soluzione di estrazione.

3. Rimettere il bastoncino nel tubo di diluizione e chiudere bene.
4. Agitare il tubo al fine di diluire il campione. Fare attenzione a non rompere l'estremità del tubo di raccolta.
5. Inserire il campione in un sacchetto di plastica e conservarlo in luogo fresco. Consegnare il campione in laboratorio entro le prossime 24 ore.

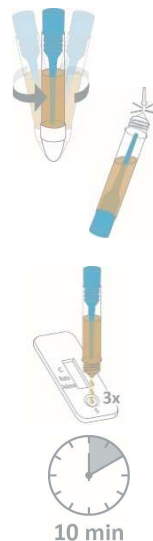


Nota :

Nel caso in cui il paziente non dovesse sentirsi sicuro nell'effettuare la diluizione del campione, può anche consegnare il campione di feci, non diluito, direttamente in laboratorio. La diluizione del campione nel tubo di raccolta sarà poi effettuata dai tecnici di laboratorio come illustrato sopra.

9. Procedura del Test

1. Portare il test a cassetta ed il campione di feci diluito a temperatura ambiente (15-30°C).
2. Togliere la cassetta dal suo imballaggio al momento dell'esecuzione del test. La cassetta deve essere a temperatura ambiente al fine di evitare una condensa a livello della membrana. Etichettare il test nello spazio apposito riportando l'identificativo del paziente.
3. Agitare energicamente il tubo al fine di rendere omogenea la soluzione.
4. Con un movimento rotatorio rompere la punta del tubo di raccolta utilizzando un foglio di carta assorbente.
5. Mantenere il tubo in verticale e depositare (esercitando una pressione sul tubo) 2-3 gocce di campione nel pozzetto di raccolta del campione (S). Evitare la formazione di bolle d'aria al momento dell'apertura del tubo così come il rovesciamento di liquidi sulla finestra di lettura della cassetta.
6. Far partire il timer. Appena il test inizia a funzionare vedrete un liquido rossastro muoversi lungo la membrana. Attendere la comparsa delle linee colorate. Il risultato può essere interpretato dopo 10 minuti. Risultati fortemente positivi potrebbero essere interpretati prima.



Non interpretare il risultato oltre i 20 minuti.

10. Interpretazione dei risultati

Interpretare le linee colorate apparse in corrispondenza della finestra di risultato del test.

Positivo ad infezione da Rotavirus e/o Adenovirus

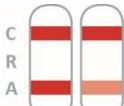
Positivo per Rotavirus:

Appare una linea colorata a livello della linea di controllo (C). Appare una linea anche a livello dell'area di risultato del test per rotavirus (R).



Positivo per Adenovirus:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Appare una linea anche a livello dell'area di risultato del test per adenovirus (A).



Positivo per Rotavirus e Adenovirus:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Appaiono due altre linee rispettivamente a livello dell'area di risultato del test per rotavirus (R) e adenovirus (A).

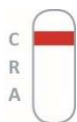


Nota Bene :

L'intensità di colore delle linee del test (R/A) dipende dalla concentrazione dell'antigene nei campioni. Pertanto, qualsiasi tonalità di colore nella zona del test indica un risultato positivo. Non quantificare i risultati e le quantità di antigeni a seconda dell'intensità delle linee. Il test, essendo un test qualitativo, non può determinare la misura della concentrazione di agenti patogeni.

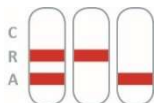
Negativo:

Appare una linea colorata a livello della zona di controllo (C). Non appare nessuna linea a livello della zona del test (R) e/o (A).



Non-valido:

Non appare la linea di controllo (C). I risultati del test non devono essere interpretati, anche se appaiono linee a livello delle zone del test (R) e (A). Si prega di rivedere la procedura e ripetere con un nuovo test. Se il problema persiste interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



Una quantità insufficiente di campione, una migrazione insufficiente del campione o una sbagliata esecuzione della procedura possono essere all'origine dell'assenza della linea di controllo. Il test deve essere ripetuto. Se la presenza di particelle visibili ostacola la migrazione, queste vanno rimosse mediante sedimentazione o centrifuga. Trasferire una parte di campione in un flacone, sedimentare le particelle mediante una breve centrifuga e versare circa 80-120 µL del campione centrifugato, nel pozzetto di raccolta del campione. In alternativa fare depositare le particelle sul fondo del tubo di raccolta ed utilizzare 80-120 µL del fluido in superficie. Se il

problema persiste interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di kit e contattare il proprio distributore.

Nota Bene:

I campioni di feci diluiti possono ingiallire il fondo del test, a causa del colore del campione. Questo è accettabile se la colorazione non influisce sull'interpretazione del test. Il test deve essere considerato come non valido se la colorazione del fondo impedisce l'interpretazione del risultato.

11. Controllo di qualità

Il test contiene un procedimento di controllo interno. Una linea colorata nella zona di controllo (C) indica che il test è stato correttamente effettuato. La comparsa della linea di controllo conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che il liquido è migrato lungo la membrana e che il test è stato eseguito correttamente.

12. Limiti del Test

- Il test NADAL® Rota-Adenovirus (feci) è riservato alla rilevazione qualitativa del Rotavirus e dell'Adenovirus nelle feci. Riservato all'uso professionale e unicamente per la diagnostica *in-vitro*.
- La diagnosi clinica definitiva non può basarsi sul risultato di un singolo test. Sarà il medico ad effettuare la diagnosi dopo una valutazione d'insieme dei test e di ulteriori esami clinici.
- Se un campione viene diagnosticato come negativo, nonostante i sintomi osservati, devono essere eseguiti altri test clinici al fine di confermare o meno il risultato del test. Un risultato negativo non esclude la possibilità di un'infezione con una flebile concentrazione di agenti virali.
- Al fine di prevenire pseudo-insorgenze, i risultati positivi dei test nei neonati devono essere confermati utilizzando un metodo di test alternativo (PCR).
- Se nei campioni fecali è presente del sangue visibile, non è possibile escludere risultati falsi positivi e pertanto è necessaria una verifica utilizzando un metodo di prova alternativo.

13. Caratteristiche Tecniche

La performance del test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) è stato valutato con 210 campioni clinici prelevati da bambini e giovani adulti confrontati con ELISA. I risultati sono riassunti come segue:

Tabella: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	totale
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	totale	82	128	210

Sensibilità relativa: >98,8%

Specificità relativa: >99,9%

Concordanza totale: >99,5%

La performance del test NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus) è stato valutato con 242 campioni clinici prelevati da bambini e giovani adulti confrontati con ELISA. I risultati sono riassunti come segue:



Tabella: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	totale
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	totale	79	163	242

Sensibilità relativa: >96,3%

Specificità relativa: >99,9%

Concordanza totale: >98,8%

Reazioni incrociate

Sono state studiate reazioni incrociate con gli organismi elencati sotto a 1,0 x 10⁹ organismi/mL. Questi campioni sono risultati negativi quando testati con il test NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografia

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.

2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.

3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.

4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.

5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954

7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 BN

1. Zastosowanie

Test NADAL® Rota-Adenovirus to szybki test kasetowy dający wizualny i jakościowy wynik metodą immunochromatografii, stwierdzający obecność antygenów rotawirusów i/lub adenowirusów w ludzkim kale.

Test NADAL® Rota-Adenovirus stosuje się jako środek pomocniczy w diagnozowaniu infekcji wirusami z grupy rota i adeno. Test przeznaczony jest tylko do użytku profesjonalnego do celów badań diagnostycznych *in-vitro*.

2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Rotawirusy to najczęstsza przyczyna ostrego infekcyjnego zapalenia żołądka i jelita cienkiego u dzieci, zwanego potocznie grypą żołądkową. Odkrycie tego faktu w 1973 roku i skojarzenie korelacji tego wirusa ze stanem zapalnym żołądkowo-jelitowym u dzieci było przełomem w badaniu tego typu infekcji.

Do zakażenia dochodzi głównie drogą pokarmową, poprzez kontakt ze stolcem. Okres inkubacji wynosi 1-3 dni. Próbkę stolca pobrane między drugim a piątym dniem po wybuchu choroby mają największą koncentrację antygenów rotawirusów, dzięki czemu stanowią najlepszy materiał do przeprowadzenia testu. W późniejszym okresie możliwe jest wykrycie rotawirusa w próbkach, lecz jego stężenie będzie mniejsze. W grupach wysokiego ryzyka np. u niemowląt, osób starszych lub osób z osłabionym systemem immunologicznym zakażenie wirusem może prowadzić nawet do śmierci. W strefie klimatu umiarkowanego do zakażenia tym wirusem dochodzi najczęściej w miesiącach zimowych. Zanozowano zarówno endemie i epidemie dotykające tysiące osób. U około 50% hospitalizowanych dzieci, u których stwierdzono zapalenie żołądkowo-jelitowe, wykryto rotawirus. Wirusy rozmnażają się w jądrze komórkowym, wykazują się silną swoistością nosiciela/gospodarza i wywołują tak zwany efekt cytopatyczny (CPE). W związku z faktem, iż bardzo trudna jest filtracja i ekstrakcja wirusa z kultur komórkowych, praktycznie niemożliwe jest odizolowanie wirusa do celów diagnostycznych. Zamiast tego opracowano inne skuteczne metody pozwalające na stwierdzenie obecności rotawirusów w stolcu.

Adenowirusy są kolejną częstą przyczyną ostrego wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego. W krajach rozwijających się ostra biegunka jest główną przyczyną zgonów u dzieci.

Badania wykazały, że adenowirusy są bardzo częstym powodem biegunek u dzieci (szczególnie Ad40 i Ad41), plasując się na drugim miejscu tuż po rotawirusach. Na infekcję szczególnie podatne są dzieci poniżej drugiego roku życia, ale narażone mogą być osoby w każdym wieku. Badania wykazały, że u około 4%-15% wszystkich pacjentów leczonych stacjonarnie z powodu wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego, infekcję wywołały adenowirusy. Szybkie i dokładne zdiagnozowanie adenowirusów jako przyczyny wirusowego zapalenia żołądkowo-jelitowego jest pomocne w stwierdzeniu czynników etiologicznych schorzenia. Przeprowadzenie innych metod diagnostycznych jak mikroskopia elektronowa i hybrydyzacja kwasów nukleinowych związane jest z dużym nakładem czasu i pieniędzy. W związku z faktem, że infekcje adenowirusami samodzielnie ustępują, takie badania nie są konieczne.

Test NADAL® Rota-Adenovirus pozwala na szybką immunochromatograficzną analizę jakościową równocześnie rotawirusów i adenowirusów. Wynik testu można odczytać po 10 minutach. Wybiórcze oznaczenie wirusów z próbki stolca możliwe jest przez zastosowanie swoistych przeciwciał wobec rotawirusów i adenowirusów.

3. Zasada działania testu

Test NADAL® Rota-Adenovirus to jakościowy test immunochromatograficzny typu lateral flow stwierdzający obecność rotawirusów i/lub adenowirusów w ludzkim stolcu. Test wykrywa rotawirusy za pomocą swoistych przeciwciał wobec rotawirusów, względnie adenowirusów, za pomocą swoistych przeciwciał wobec adenowirusów.

Po dodaniu próbki, tj. rozcieńczonego za pomocą bufora stolca, barwnie oznakowane przeciwciała wiążą się z danym wirusem, jeśli jest on obecny w próbce stolca. Poprzez działanie sił kapilarnych kompleks cząsteczki wirus-przeciwciała przemieszcza się wzdłuż membrany. Dalej, w odpowiednich polach linii testowych, dochodzi do przechwycenia kompleksu przez odpowiednie przeciwciała wobec rotawirusa i/lub adenowirusa. Jeśli rotawirusy są obecne w próbce, utworzy się czerwona linia w obszarze oznakowanym na kasetce testu literą R. W przypadku obecności adenowirusów w materiale badawczym utworzy się linia w polu oznakowanym na kasetce testu literą A. Jeśli oba wirusy znajdują się w próbce, np. w przypadku infekcji mieszanej, utworzą się dwie linie. Jeśli nie ma w próbce stolca zarówno rotawirusów jak i adenowirusów, barwnie oznakowane przeciwciała nie mogą utworzyć wiązań i nie dojdzie do utworzenia czerwonych linii. Zatem utworzenie się czerwonej linii świadczy o pozytywnym wyniku, podczas gdy brak linii oznacza wynik negatywny.

O prawidłowym przeprowadzeniu testu świadczy czerwona linia utworzona w polu kontrolnym oznakowanym literą C. Linia w polu kontrolnym sugeruje, że ilość próbki była wystarczająca oraz, że próbka całkowicie zwiłżyła membranę.

4. Części składowe zestawu

- 10 NADAL® Rota-Adenovirus szczelnie zapakowanych, pakowanych pojedynczo testów kasetowych
- 10 próbek na pobranie próbki stolca zawierających bufor rozcieńczający
- 10 jednorazowych pipetek, które stosuje się w przypadku wyjątkowo rzadkiej próbki stolca
- 1 ulotka informacyjna (instrukcja użycia)

5. Dodatkowo potrzebne materiały

Dla pacjenta:

Materiały pomocne do pobrania próbki stolca. Próbkę stolca nie może mieć kontaktu z wodą w muszli klozetowej, aby nie doszło do rozcieńczenia i/lub zanieczyszczenia próbki detergentami i środkami czystości. Na życzenie firma nal von minden GmbH może zaofertować specjalne urządzenie do pobierania stolca.

W gabinetach lekarskich i laboratoriach:

- Chłonny papier potrzebny przy łamaniu końcówki próbek
- Stoper

6. Data ważności i przechowywanie

Zestaw testowy w oryginalnym opakowaniu należy przechowywać w pomieszczeniach o temperaturze pokojowej lub w miejscu schłodzonym (2-30°C). W takich warunkach testy kasetowe i bufor są zdadne do użytku do upływu wyznaczonego terminu ważności. Testy kasetowe należy pozostawić w szczelnie zamkniętym opakowaniu wraz ze środkami pochłaniającymi wilgoć aż do momentu przeprowadzenia testu.

NIE ZAMRAŻAĆ.

Nie używać po upływie terminu ważności.

7. Uwagi i środki ostrożności

- Tylko do użytku profesjonalnego i diagnostyki *in-vitro*.
- Tylko do jednorazowego użytku.
- Nie mieszać i nie wymieniać odczynników i materiałów z różnych zestawów testowych.
- Nie używać testu, jeżeli foliowe opakowanie jest uszkodzone.
- Nie stosować po upływie terminu ważności.
- Test zawiera składniki pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza na temat pochodzenia i/lub stanu sanitarnego zwierząt nie gwarantują w pełni braku obecności możliwych do przenoszenia patogenów. Dlatego zaleca się, aby traktować te produkty jako potencjalnie zakaźne i obchodzić się z nimi zgodnie ze zwyczajowymi zasadami bezpieczeństwa (np. niepołykanie lub niewydychanie).
- Należy unikać zanieczyszczenia krzyżowego próbek używając do każdej próbki nowej probówki.
- Nie jeść, nie pić i nie palić w obszarze pracy z próbkami i testem. Podczas całej procedury przeprowadzania testu należy przestrzegać ustalonych środków ostrożności przeciwko zagrożeniom mikrobiologicznym oraz stosować się do standardowych procedur podczas usuwania próbek. Podczas testowania próbek należy nosić ubranie ochronne, takie jak kittel laboratoryjny, rękawiczki jednorazowe lub okulary ochronne.
- Roztwór ekstrakcyjny zawiera niewielką ilość azydku sodu, który reaguje z ołowianymi i miedzianymi rurami instalacyjnymi i może kształtować wybuchowe azydki metali. Przy usuwaniu roztworu ekstrakcyjnego i pobranej próbki przez instalację odpływową należy zawsze splukać go dużą ilością wody, aby uniknąć kształtowania się azydków.
- Wilgoć i temperatura mogą mieć negatywny wpływ na wynik testu.
- Przy odpowiednim obchodzeniu się z testem, materiały w nim zawarte jak przeciwciała czy chemikalia, nie stanowią zagrożenia.
- Należy dokładnie stosować się do poleceń w instrukcji obsługi. Pacjentom należy udzielić szczegółowej informacji, szczególnie dotyczącej pobrania próbki stolca i jej rozcieńczenia.

8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Optymalne warunki pobrania próbki

Test NADAL® Rota-Adenovirus to test kasetowy przeznaczony do badania próbki stolca ludzkiego. Przed wykonaniem testu należy rozcieńczyć próbkę buforem, który jest dołączony do

zestawu. Aby skutecznie wykryć obecność wirusa zaleca się pobrać próbkę stolca zaraz po wystąpieniu symptomów choroby. Największą ilość wydalanych rotawirusów ma miejsce między 3-5 dniem po wystąpieniu objawów choroby. W przypadku adenowirusów, największe występowanie ma miejsce między 3-13 dniem od momentu wystąpienia symptomów. Jeśli pobierze się próbkę na długo po wystąpieniu symptomów, zawarta w niej ilość antygenów może okazać się niewystarczająca by uzyskać wynik pozytywny testu. Istnieje też ryzyko, że wykryte zostaną antygeny niemające związku ze schorzeniem jelitowo- żołądkowym czy biegunką.

Próbki kału powinny zostać użyte do badania zaraz po pobraniu lub przechowywane w temp. 2-8°C przez 2 dni. Dłuższe przechowywanie jest możliwe w temp. -20°C. Należy unikać wielokrotnego zamrażania i rozmrażania próbek.

Wskazówki dla pacjenta

W celu pobrania próbki stolca, pacjent otrzymuje probówkę do pobrania próbki i jednorazową pipetkę z zestawu testowego. Należy poinstruować pacjenta, aby pobrał próbkę stolca w następujący sposób:

- Każdy suchy i czysty pojemnik albo wodoodporny papier, mogą zostać użyte do pobrania próbki. Próbkę stolca nie może mieć kontaktu z wodą w muszli klozetowej, aby nie doszło do rozcieńczenia próbki i/lub zanieczyszczenia detergentami i środkami czystości. Wystarczy 1-2 mL lub 1-2 g stolca.
- Umieścić niewielką ilość próbki stolca w probówce:



Stolec o stałej konsystencji:

Otworzyć zatyczkę probówki na pobranie próbki. Nakłuć próbkę stolca w trzech różnych miejscach i w ten sposób pobrać około 50 mg stolca (wielkość próbki odpowiada 1/3 ziarenka groszku).



Stolec o płynnej konsystencji:

Jeśli konsystencja stolca jest zbyt płynna, należy użyć załączonej jednorazowej pipety. Trzymając pipetę pionowo, należy naciągnąć niewielką ilość stolca do pipety, a następnie nanieść 2 krople (około 50 µL) do probówki, w której zawarty jest bufor rozcieńczający.



- Wprowadzić spiralną patyczka do probówki i dokładnie ją zakręcić.
- Wstrząsnąć probówką, aby w ten sposób dokładnie wymieszać próbkę stolca z roztworem buforowym. Należy ostrożnie obchodzić się z probówką, aby nie złamał się jej czubek.
- Wsadzić probówkę do plastikowej torebki i następnie przenieść ją do chłodnego miejsca (np. do lodówki). W ciągu następnych 24 godzin probówkę należy przynieść do gabinetu lekarskiego.

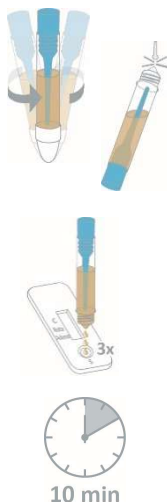


Wskazówka:

Jeśli pacjent jest niepewny procedury rozcieńczenia próbki, w tym celu może udać się do gabinetu zabiegowego wraz z niespreparowaną tj. nierozcieńczoną próbką.

9. Przeprowadzanie testu

1. Szczelnie zamknięty test i pobraną próbkę doprowadzić do temperatury pokojowej tj. od 15°C do 30°C przed przeprowadzeniem testu.
2. Test wyjąć z opakowania bezpośrednio przed przeprowadzeniem testu. Kasetka testu powinna mieć temperaturę pokojową, aby w ten sposób uniknąć kondensacji i skraplania się wilgoci na membranie testu. Należy opisać kasetkę testu np. numerem pacjenta lub numerem kontrolnym, by umożliwić późniejszą identyfikację.
3. Mocno wstrząsnąć probówką, by dokładnie wymieszać próbkę stolca z roztworem buforowym.
4. Odkręcić białą zakrętkę, a następnie trzymając probówkę przez chłonny papier, złamać plastikową końcówkę probówki.
5. Trzymając probówkę pionowo, nanieść 2-3 krople substancji do otworu (S) kasetki, delikatnie naciskając ścianki probówki. Należy uniknąć tworzenia się pęcherzyków powietrza w otworze kasetki (S) jak i zakroplenia kwadratowego okna wyniku.
6. Rozpocząć odliczanie czasu. Już w pierwszych sekundach testu można zobaczyć, jak membrana nasiąka czerwonoą substancją. Oczekać do ukazania się jednej lub dwóch barwnych linii. Wynik należy odczytać po upływie 10 minut. Wyniki silnie pozytywne mogą być widoczne wcześniej. Wyników po upływie 20 minut od rozpoczęcia testu nie należy interpretować.

**10. Interpretacja wyników**

Aby odczytać wynik testu, należy zinterpretować barwne linie, które ukażą się w oknie wyników.

Możliwe wyniki.**Wynik pozytywny na obecność rotawirusów:**

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C) i barwna linia w polu testowym na rotawirusy oznakowanym literką R.

**Wynik pozytywny na obecność adenowirusów:**

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C) i barwna linia w polu testowym na adenowirusy oznakowanym literką A.

**Wynik pozytywny na obecność rotawirusów i adenowirusów:**

Pojawi się barwna linia w polu kontrolnym (C) jak i 2 barwne linie w polu testowych na rotawirusy (R) i adenowirusy (A).

**Wskazówka:**

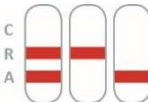
Intensywność barwy w polach testowych (R/A) zależy od stężenia antygenów w materiale próbnym tj. w próbce stolca. Nawet lekko zabarwione linie w polu testowym należy zinterpretować jako wynik pozytywny. Nie należy szacować ilości antygenów sugerując się intensywnością barwy linii. Test jest przeznaczony do analizy jakościowej.

Wynik negatywny

Pojawia się barwna linia w polu kontrolnym (C). W polach oznakowanych literkami R i A nie pojawiają się linie.

**Wynik nieważny**

Nie pojawia się linia w polu kontrolnym (C). Jeśli po określonym wyżej czasie nie pojawiła się linia w polu kontrolnym (C), nie należy interpretować wyniku.



Najczęstszą przyczyną braku linii w polu kontrolnym (C) jest niewystarczająca ilość próbki, niewystarczające nasiąknięcie membrany roztworem lub nieprawidłowe przeprowadzenie testu. Należy sprawdzić, czy podczas procedury testu nie popełniono żadnych błędów a następnie powtórzyć test. Jeśli przemieszczanie się próbki wzduż membrany testu uniemożliwiają duże cząsteczki stolca, w celu ich usunięcia należy przed przeprowadzeniem testu poddać próbkę sedymentacji lub odwirowaniu.

Następnie przetransportować część próbki do nowej probówki, poddać ją sedymentacji lub wirowaniu, a następnie nanieść 80-120 µl substancji do otworu (S) nowej kasetki testu. Alternatywnie można pozostawić probówkę z próbką stolca i buforem w pozycji pionowej, aż do osadzenia się cząsteczek stolca. Następnie pobrać 80-120 µl substancji z osadu i użyć do przeprowadzenia testu.

Uwaga:

W przypadku testowania rozcieńczonych próbek stolca, możliwe jest zbytowe zabarwienie tła pola testowego spowodowane swoistą kolorystyką stolca.

Jeśli jednak nie utrudni to interpretacji wyniku testu, jest to wynik do zaakceptowania. Natomiast w przypadku, gdy tło testu jest nieprzejrzyste zasłaniając linie wyniku, test uznaje się za nieważny, a wynik za nieprawidłowy.

11. Kontrola jakości

Test posiada wewnętrzną kontrolę. Barwna linia w polu kontrolnym C wskazuje, że test został przeprowadzony prawidłowo. Pojawienie się tej linii potwierdza, że ilość próbki była wystarczająca, nastąpiło całkowite nasiąknięcie membrany testu i test został przeprowadzony prawidłowo.

12. Ograniczenia testu

- Test NADAL® Rota-Adenovirus przeznaczony jest tylko do diagnostyki *in-vitro* dla personelu fachowego i służy tylko

i wyłącznie do oznaczania jakościowego obecności rotawirusów i adenowirusów.

- Jak w przypadku wszystkich szybkich testów diagnostycznych, wynik testu nie powinien być jedyną podstawą rozpoznawania i diagnozy schorzenia, zaleca się potwierdzenie wyniku przez lekarza specjalistę w powiązaniu z symptomatyką, historią kliniczną i wynikami innych badań.
- Jeśli w przypadku negatywnego wyniku testu objawy utrzymują się, należy przeprowadzić inne kliniczne badania w celu wyjaśnienia przyczyny. Należy wziąć pod uwagę, że wynik negatywny testu nie wyklucza obecności adeno- lub rotawirusów w stolcu (jeśli jest to infekcja o niskim stężeniu wirusów).
- Pozytywny wynik testu u noworodków musi zostać potwierdzony alternatywną metodą badania (PCR), aby zapobiec wybuchom pseudo-epidemii.
- Przy widocznej krwi w próbkach kału nie można wykluczyć wyników fałszywie dodatnich i dlatego należy ją sprawdzić alternatywną metodą badania.

13. Charakterystyka testu

Wydajność testu NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Adenovirus) została określona przy pomocy 210 klinicznych próbek od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu do ELISA. Wyniki zostały przedstawione w następującej tabeli.

Tabela: Szybki test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
		+	-	razem
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	razem	82	128	210

Relatywna czułość: >98,8%

Relatywna swoistość: >99,9%

Całkowita zgodność: >99,5%

Wydajność testu NADAL® Rota-Adenovirus Tests (Rotavirus) została określona przy pomocy 242 klinicznych próbek od dzieci i młodych dorosłych w porównaniu do ELISA. Wyniki zostały przedstawione w następującej tabeli.

Tabela: Szybki test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
		+	-	razem
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	razem	79	163	242

Względna czułość >96,3%

Względna swoistość >99,9%

Całkowita zgodność >98,8%

Reakcje krzyżowe

Reakcje krzyżowe z poniżej wymienionymi organizmami zostały przebadane ze stężeniem na poziomie $1,0 \times 10^9$ organizmów/mL. Próbkę te zostały przebadane testem NADAL® Rota-Adenovirus i określone jako negatywne.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Bibliografia

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelm I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 MW

1. Utilização prevista

O teste NADAL® Rota-Adenovírus é um imuno-ensaio visual rápido para a deteção qualitativa de rotavírus e adenovírus em amostras fecais humanas. Este teste destina-se à utilização como ajuda no diagnóstico de infeção por rotavírus e adenovírus. O teste está concebido para ser utilizado apenas para o diagnóstico profissional *in-vitro*.

2. Introdução e significados clínicos

O Rotavírus é o agente responsável por gastroenterite aguda mais comum, principalmente em crianças jovens. A sua descoberta em 1973 e associação com gastroenterite infantil representou um avanço muito importante no estudo de gastroenterite não causada por infeção bacterial aguda. O rotavírus é transmitido por via oro-fecal, com um período de incubação de 1 a 3 dias. Apesar de ser ideal a recolha da amostra entre o segundo e o quinto dia da doença para a deteção de antígeno, o rotavírus pode ainda ser encontrado enquanto a diarreia continuar. A gastroenterite rotaviral pode resultar em mortalidade para populações de risco, tais como crianças, idosos e pacientes imunocomprometidos. Em climas temperados, as infeções por rotavírus ocorrem principalmente nos meses de inverno. As endemias, assim como as epidemias que afetam alguns milhares de pessoas, devem ser relatadas. Em crianças hospitalizadas que sofrem de doença entérica aguda, até 50% da amostra analisada apresentaram resultados positivos para rotavírus. As viroses repetem-se no núcleo das células e tendem a alojar espécies específicas, produzindo um efeito citopático (CPE) característico. Uma vez que o rotavírus é de cultura extremamente difícil, é pouco usual utilizar isolamento do vírus para diagnosticar uma infeção. Como alternativa, foram desenvolvidas uma série de técnicas para detetar o rotavírus em fezes.

A doença diarreica aguda em crianças jovens é uma causa principal de morbidez em todo o mundo e é uma causa líder de mortalidade nos países em desenvolvimento. Estudos realizados apresentam que as adenoviroses entéricas, principalmente Ad40 e Ad41, são uma causa líder de diarreia em muitas destas crianças, encontrando-se na segunda posição as rotaviroses. Estes patógenos virais foram isolados em todo o mundo, e podem causar diarreia em crianças durante o ano. As infeções são mais frequentemente detetadas em crianças com menos de 2 anos, mas também foram encontradas em pacientes de outras idades. Estudos adicionais indicam que as adenoviroses estão associadas com 4 a 15% dos casos hospitalizados de gastroenterite viral.

É útil o diagnóstico rápido e preciso de gastroenterite gerado por adenovírus, para estabelecer a etiologia da gastroenterite e a gestão relacionada do paciente. Outras técnicas de diagnóstico, tais como microscopia electrónica (ME) e hibridização ácida nucléica são caros e muito trabalhosos. Com a sua natureza auto-limitadora da infeção de adenovírus, tais testes caros e trabalhosos podem não ser necessários.

3. Princípio do teste

O teste NADAL® Rota-Adenovírus está concebido para a deteção do rotavírus e adenovírus através da interpretação visual da cor desenvolvida na tira reagente interna.

Neste ensaio, o rotavírus e o adenovírus são detetados com a ajuda de anticorpos específicos. Após a adição da amostra

(fezes diluídas com buffer), os anticorpos específicos classificados com cores ligam-se especificamente ao respectivo vírus, se este estiver presente na amostra. Quando este complexo migra de forma ascendente na membrana através de ação capilar, é capturado com a ajuda de outros anticorpos específicos contra rotavírus ou adenovírus na zona de resultados do teste, para o vírus respetivo. Se o rotavírus estiver presente na amostra, é gerada uma linha de resultados vermelha ao lado da zona marcada com "R". Se o adenovírus estiver presente na amostra, irá aparecer uma linha vermelha ao lado da zona marcada com "A". Se ambas as viroses estiverem presentes (infeção mista), aparecerão duas linhas de resultados. Se nenhum vírus estiver presente no anticorpo classificado com cor, não pode ligar na área de resultados de teste. Não se formam quaisquer linhas vermelhas de resultado de teste. Assim, a presença de uma linha de resultado colorida indica um resultado positivo, enquanto a sua ausência indica um resultado negativo.

Para servir como controlo processual, aparecerá sempre uma linha colorida na área de controlo, indicando que foi adicionado o volume adequado da amostra e que ocorreu a absorção da membrana.

4. Reagentes e materiais fornecidos

- 10 Testes cassete NADAL® Rota-Adenovírus individualmente embalados.
- 10 Tubos de recolha de amostra com buffer de diluição, para recolha e diluição da amostra.
- 10 Pipetas descartáveis para recolha de amostras extremamente líquidas.
- 1 Manual de utilização.

5. Outros materiais necessários (não fornecidos)

Paciente:

Meios para a recolha de uma amostra.

Assegurar que as amostras não entrem em contacto com a água da sanita, a fim de evitar a diluição ou contaminação, por exemplo, com detergentes. Mediante pedido, a nal von minden poderá fornecer unidades específicas para a recolha de fezes.

Clínica ou laboratório:

- Papel de seda para quebrar a ponta do tubo buffer.
- Cronómetro.

6. Armazenamento & Estabilidade

Armazenar o teste dentro da embalagem quer à temperatura ambiente ou refrigerado (entre 2-30°C).

Sob estas condições, o teste cassete e o buffer de diluição mantêm-se estáveis até à expiração do prazo de validade. O teste cassete deve manter-se dentro da embalagem selada contendo um dessecante até à sua utilização.

Não congelar.

Não utilizar após expirar o prazo de validade.

7. Avisos e Precauções

- Apenas para utilização profissional de diagnóstico *in-vitro*.
- Para utilização única. Não reutilizar os testes.
- Não trocar ou misturar reagentes de lotes diferentes.
- Não utilizar os testes se a embalagem estiver danificada.
- Não utilizar os testes após expirar o prazo de validade.

- Este teste contém produtos de origem animal. Certificados com o conhecimento da origem e/ou estado sanitário dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos transmissíveis. Portanto, é recomendável que esses produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados em conformidade com as precauções habituais de segurança (p. ex.: não ingerir nem inalar).
- Evitar a contaminação cruzada das amostras, utilizando um novo recipiente para a recolha das amostras para cada amostra obtida.
- Não comer, beber ou fumar na área onde as amostras ou os kits são manuseados. É recomendada a utilização de vestuário de proteção, tal como batas de laboratório, luvas descartáveis e óculos de proteção. Deverá observar as precauções estabelecidas contra materiais de risco microbiológico durante a análise. Seguir os procedimentos padrão para a eliminação adequada de amostras, de acordo com as regulações locais.
- O buffer de diluição da amostra contém uma pequena quantidade de azida de sódio que pode reagir com chumbo ou cobre das canalizações, podendo formar azidas metálicas potencialmente explosivas. Ao descartar-se da solução de extração ou das amostras extraídas, deverá lavar-se sempre com abundantes quantidades de água a fim de prevenir a acumulação de azida.
- A humidade e a temperatura podem afetar adversamente os resultados.
- Os componentes do teste (p. ex.: anticorpos/químicos) não causam qualquer perigo se o teste for utilizado de acordo com as instruções.
- Deverá seguir as instruções de utilização cuidadosamente. Deverá informar os pacientes sobre a forma de recolha e diluição da amostra fecal.

8. Recolha e preparação da amostra

Condições para uma recolha adequada da amostra

O teste NADAL® Rota-Adenovirus é destinado à utilização com amostras fecais humanas que foram diluídas no buffer fornecido.

A deteção viral torna-se mais fácil se a recolha de amostras for realizada no início do aparecimento dos sintomas. Foi relatado que a máxima secreção de rotavírus em fezes de pacientes com gastroenterite ocorre entre 2 a 5 dias após o início dos sintomas. Para o adenovírus a secreção máxima é entre 3 a 13 dias após o início dos sintomas. Se as amostras forem recolhidas muito tempo depois do início dos sintomas de diarreia, a quantidade de antígeno pode não ser suficiente para obter uma reação positiva ou os antígenos detetados podem não estar ligados ao episódio de diarreia.

As amostras de fezes devem ser armazenadas entre 2-8°C imediatamente após a recolha e processadas dentro de 48 horas. É possível armazenar por períodos mais longos a -20°C. Deve ser evitado o congelamento e descongelamento repetidos das amostras.

Recolha e preparação da amostra pelo paciente

Para recolher a amostra de fezes, é dado ao paciente um dos tubos de recolha da amostra do kit e uma pipeta descartável. A amostra fecal deverá ser recolhida da seguinte forma:

1. Qualquer recipiente limpo e seco ou papel impermeável pode ser utilizado para a recolha da amostra. Assegurar que a amostra fecal não entra em contacto direto com a água da sanita, para evitar a diluição ou contaminação com detergentes. É suficiente uma quantidade de 1 a 2 mL ou 1 a 2 g de fezes.
2. Transferir uma pequena quantidade de fezes para o tubo de recolha de amostra:



Para amostras sólidas:

Desenroscar a tampa do tubo de recolha de amostra, depois aleatoriamente espetar o aplicador de recolha de amostra na amostra fecal em, pelo menos, 3 locais diferentes, para recolher aproximadamente 50 mg de fezes (equivalente a 1/4 de ervilha).



Para amostras líquidas:

Se a amostra for demasiado líquida para espetar o aplicador, deve utilizar a pipeta descartável fornecida. Segurar a pipeta na vertical, aspirar parte da amostra e depois transferir 2 gotas (aproximadamente 50 µL) para dentro do tubo de recolha de amostra contendo o buffer de diluição.



3. Colocar o aplicador de volta no tubo e enroscar hermeticamente a tampa.
4. Agitar o tubo de recolha, para misturar a amostra e o buffer de diluição. Seja cuidadoso para não partir a ponta do tubo de recolha.
5. Enrolar a amostra num saco de plástico e armazenar num local fresco. Devolver a amostra na clínica médica dentro de 24 horas após a recolha.



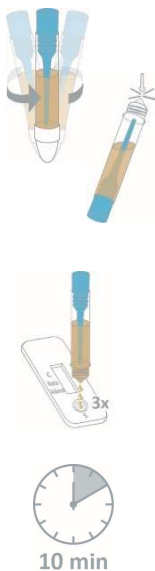
Nota:

Se o paciente não se sentir confortável a diluir a amostra fecal no tubo de recolha, poderá entregar na clínica um recipiente com a amostra fecal não transformada. A transferência da amostra para o buffer do tubo de recolha da amostra pode depois ser efetuada como é descrito acima pelo pessoal da clínica ou do laboratório.

9. Procedimento do teste

1. Antes de iniciar a análise permitir que o dispositivo de teste e a amostra fecal diluída alcancem a temperatura ambiente (15-30°C).
2. Retirar o teste cassette da embalagem quando estiver tudo pronto para realizar o teste. O teste cassette deve estar à temperatura ambiente para evitar a condensação da humidade na membrana. Rotular o teste cassette no espaço apropriado para esse efeito, com a identificação do paciente ou do controlo.

3. Agitar bem o tubo de recolha para assegurar a mistura adequada da amostra fecal com a solução de extração.
4. Utilizando um pedaço de papel de tecido, quebrar a ponta do tubo de recolha com movimento giratório.
5. Segurar o tubo verticalmente e dispensar entre 2 a 3 gotas de solução no orifício redondo para amostra (S) do teste cassete, aplicando uma ligeira pressão nas paredes do tubo. Evitar bolhas de ar no orifício de amostra ou salpicos de líquido na janela de resultados.
6. Iniciar a cronometragem. À medida que o teste começar a funcionar, irá aparecer um líquido de cor vermelha movendo através da membrana. Esperar que a(s) linha(s) de cor apareçam. O resultado deverá ser lido após 10 minutos. Os resultados significativamente positivos podem ser observados antes. Não interpretar o resultado após 20 minutos.

**Resultado inválido:**

A linha de controlo (C) não aparece. Os resultados de qualquer teste que não tenha apresentado uma linha de controlo durante o tempo de leitura específico devem ser rejeitados.

Por favor, rever o procedimento e repeti-lo com um novo teste. Se o problema persistir, deve parar de utilizar o kit imediatamente e contactar o seu distribuidor.



As razões mais prováveis para a falha da linha de controlo são a utilização de volume insuficiente de amostra, a migração insuficiente da amostra ou a utilização de técnicas incorretas de procedimento. Rever o procedimento e repetir o teste com um novo teste cassete. Se a presença de partículas visíveis inibe a migração, estas podem ser removidas por centrifugação ou sedimentação. Transferir uma parte da amostra para um tubo, sedimentar as partículas através de uma breve centrifugação e pipetar aproximadamente 80-120 µL do supernatante dentro do orifício para amostra do novo teste cassete. Alternativamente, permitir que as partículas se sedimentem na vertical dentro do tubo de recolha da amostra e utilizar 80-120 µL da parte de cima do líquido. Se o problema persistir, parar de utilizar o kit de teste imediatamente e contactar o seu distribuidor local.

Nota:

Quando as amostras fecais são testadas, o fundo pode aparecer ligeiramente amarelado devido à cor das amostras fecais. Isto é aceitável desde que não interfira com a interpretação do resultado do teste. O teste é inválido se o fundo não clarear e obscurecer a leitura do resultado.

10. Interpretação de resultados

Para ler os resultados da análise deverá interpretar-se as linhas coloridas que surgem na janela de resultado do teste.

Resultado positivo para Rotavírus, Adenovírus ou ambos**Positivo para Rotavírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e outra na área de resultados para Rotavírus (R).

**Positivo para Adenovírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e outra na área de resultados para Adenovírus (A).

**Positivo para Rotavírus e Adenovírus:**

Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) e duas outras linhas coloridas aparecem na área de resultados para Rotavírus (R) e para Adenovírus (A), respetivamente.

**Nota:**

A intensidade de cor nas áreas de teste (R/A) podem variar, dependendo da concentração dos antígenos alvo presentes na amostra. Assim, qualquer sombra de cor na área de teste deve ser considerada positiva. Para além disso, o nível de vírus não pode ser determinado por este teste qualitativo.

Resultado negativo:

Aparece uma linha colorida na área de controlo (C). Não aparece qualquer linha nas áreas de teste para Rotavírus e Adenovírus.

**11. Controlo de qualidade**

O teste cassete integra um procedimento de controlo interno. Uma linha colorida aparece na área de controlo (C) como controlo processual interno. Isto confirma a utilização de volume de amostra suficiente, da absorção adequada da membrana e das técnicas processuais corretas.

12. Limitações

- O teste NADAL® Rota-Adenovirus está concebido para ser utilizado apenas para o diagnóstico profissional *in-vitro* e deve ser utilizado unicamente para a deteção qualitativa de rotavírus e adenovírus.
- Como acontece com todos os testes de diagnóstico, um diagnóstico clínico definitivo não deve ser baseado no resultado de um único teste, porém deve ser realizado por um médico após reunir/avaliar todos os dados clínicos e laboratoriais.
- Se o resultado do teste for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de uma análise adicional utilizando outros métodos clínicos. Um resultado negativo não exclui, em qualquer momento, a possibilidade de infeção por rotavírus ou adenovírus.
- A fim de evitar-se pseudo-surtos, os resultados positivos dos testes em recém-nascidos devem ser confirmados através de um método de teste alternativo (PCR).
- Perante uma evidência de sangue na amostra fecal, não se pode rejeitar eventuais resultados falso-positivos e, portanto, uma verificação de resultados deverá ser considerada, usando-se um método alternativo de teste.



13. Características de desempenho

O desempenho do teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus) foi avaliado com 210 amostras clínicas recolhidas de crianças e jovens adultos, em comparação com o método ELISA. Os resultados encontram-se sumarizados na seguinte tabela:

Tabela: teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus) vs. ELISA

		Teste NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovírus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Sensibilidade relativa: >98,8%

Especificidade relativa: >99,9%

Concordância global: >99,5%

O desempenho do teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus) foi avaliado com 242 amostras clínicas recolhidas de crianças e jovens adultos, em comparação com o método ELISA. Os resultados encontram-se sumarizados na seguinte tabela:

Tabela: teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus) vs. ELISA

		Teste NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavírus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Sensibilidade relativa: >96,3%

Especificidade relativa: >99,9%

Concordância global: >98,8%

Reatividade cruzada

Foi estudada a reatividade cruzada com os seguintes organismos a 1,0 x 10³ organismos/mL. Estas amostras apresentaram-se negativas quando testadas com o teste NADAL® Rota-Adenovirus.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Group C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Group B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Referências

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.

4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 AL

1. Účel použití

NADAL® Rota-Adenovirus test je rychlý, vizuálně vyhodnotitelný imunotest pro kvalitativní detekci rotavirů a adenovirů ve vzorcích lidské stolice. Test určen k použití jako pomůcka k diagnóze rota- či adenovirových infekcí. Test je určen pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.

2. Úvod a klinický význam

Rotavirus je neobvyklejší patogen, který způsobuje akutní gastroenteritidu, zejména u malých dětí. Jeho odhalení v roce 1973 a zjištění jeho spojitosti s dětskou gastroenteritidou znamenaly důležitý pokrok ve výzkumu akutní nebakteriální gastroenteritidy. Rotavirus se přenáší orálně-fekální cestou a má inkubační dobu 1-3 dny. Vzorky odebrané mezi druhým a pátým dnem nemoci jsou ideální pro detekci antigenů, rotaviry však mohou být detekovány dokud průjem přetrvává. U rizikových skupin jako jsou kojenci, staří lidé nebo lidé s oslabenou imunitou může být onemocnění rotavirovou gastroenteritidou smrtelné. V mírných klimatických pásmech se rotavirové infekce vyskytují zejména v zimním období. Byly zaznamenány jak endemie tak i epidemie s tisíci postiženými. U přibližně 50% dětí, které byly hospitalizovány s akutní gastroenteritidou byly prokázány rotaviry. Viry se množí v buněčném jádře a vyvolávají charakteristický cytopatický efekt (CPE). Vzhledem k tomu, že jsou rotaviry velmi těžko kultivovatelné, je izolace viru pro diagnostické účely neobvyklá. Místo toho byly vyvinuty různé jiné technologie, které umožní detekci rotavirů ze vzorků stolice.

Akutní průjemová onemocnění jsou celosvětově hlavní příčinou úmrtnosti u malých dětí a jednou z nejdůležitějších příčin úmrtnosti v rozvojových zemích. Výzkum ukázal, že enterické adenoviry, zejména Ad40 a Ad41, jsou jednou z hlavních příčin průjmů u dětí, hned po rotavirech. Tyto virální patogeny byly identifikovány po celém světě a mohou zapříčinit průjem u dětí v průběhu celého roku. Infekce jsou často pozorovány u dětí mladších dvou let, vyskytují se ale také u pacientů jiných věkových kategorií. Další studie ukazují, že adenoviry jsou spojovány se 4-15 % všech hospitalizovaných případů virové gastroenteritidy.

Rychlá a přesná diagnóza gastroenteritidy způsobené adenoviry pomáhá k etiologickému stanovení gastroenteritidy a s ní spojeným managementem pacientů. Jiné diagnostické metody, jako elektronová mikroskopie (EM) a hybridizace nukleové kyseliny jsou drahé a velmi pracné. Vzhledem k tomu, že adenovirové infekce po určité době samy odezní, mohou být takto drahé a pracné metody zbytečné.

3. Princip testu

Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen k detekci rotavirů a adenovirů prostřednictvím vizuální interpretace zbarvení na proužku.

V tomto testu jsou rotaviry a adenoviry detekovány za pomoci specifických protilátek. Po přidání vzorku (puřem zředěná stolice) se barevně označené protilátky naváží na příslušný virus pokud je přítomen ve vzorku. Když tyto komplexy protilátek a virů putují pomocí kapilárních sil membránou, jsou zachyceny jinou protilátkou specifickou proti rotavirům nebo adenovirům v oblasti testovací linie pro příslušný virus. Pokud je ve vzorku přítomen rotavirus, objeví se červená testovací linie v oblasti označené "R". Pokud je ve vzorku přítomen

adenovirus, objeví se červené testovací linie v oblasti označené "A". Pokud jsou přítomny oba viry (smíšená infekce) objeví se dvě testovací linie. Pokud není přítomen žádný virus, nenaváže se barevně označená protilátka na specifické protilátky proti viru v oblasti testovací linie. Neutvoří se žádná červené testovací linie. Přítomnost červené testovací linie indikuje pozitivní výsledek, zatímco její absence indikuje negativní výsledek.

Jako procedurální kontrola slouží červená linie, která se vždy objeví v oblasti kontrolní linie a indikuje, že bylo použito dostatečné množství vzorku a že membrána byla funguje správně.

4. Činidla a dodávané materiály

- 10 individuálně balených NADAL® Rota-Adenovirus testovacích kazet
- 10 zkumavek na odběr vzorku obsahujících ředící puř na odběr a zředění vzorku
- 10 jednorázových pipet pro odběr velmi řídkých vzorků
- 1 Návod k použití

5. Další potřebné materiály

Pacient:

- Pomůcka na odběr vzorku stolice.
Aby se zamezilo zředění nebo kontaminaci s např. čistícími prostředky, musí být zaručeno, že vzorky nepřijdou do kontaktu s vodou v toaletní misce. nal von minden GmbH může na požádání dodat speciální pomůcky na odběr vzorku.

Klinika nebo laboratoř:

- Savý papír pro odlomení špičky zkumavky pro odběr vzorku.
- Stopky

6. Skladování a stabilita

Skladujte test v originálním balení při pokojové teplotě nebo chlazeně (2-30°C).

Ze těchto podmínek mají testovací kazeta a puř na zředění vzorku trvanlivost do doby expirace. Testovací kazeta musí zůstat v zapečetěné fólii obsahující vysoušedlo až do okamžiku použití.

Nezmrazujte.

Nepoužívejte po uplynutí data expirace.

7. Upozornění a bezpečnostní opatření

- Pouze pro profesionální *in-vitro* diagnostiku.
- K jednorázovému použití. Nepoužívejte testy opakovaně.
- Nezaměňujte nebo nemíchejte činidla z různých šarží.
- Nepoužívejte je-li ochranná fólie testu poškozena.
- Nepoužívejte po uplynutí data expirace.
- Tento test obsahuje produkty živočišného původu. Certifikovaná znalost původu a/nebo zdravotního stavu zvířat nezaručuje plně absenci přenosných patogenů. Je tudíž doporučeno s těmito produkty zacházet jako s potencionálně infekčními a řídít se běžnými bezpečnostními opatřeními (např. nepolykat nebo nevdechovat).
- Aby se zabránilo křížové kontaminaci vzorků, používejte pro každý vzorek novou nádobu.
- Nejezte, nepijte a nekuřte v prostorách, kde se zachází se vzorky nebo testovacími sadami. Doporučujeme používat

ochranný oděv, jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice ochranné brýle. Během testování dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik. Řiďte se standardními postupy pro správnou likvidaci vzorků v souladu s místními předpisy.

- Pufr na zředění vzorku obsahuje malé množství azidu sodného, který může reagovat s olověným nebo měděným potrubím a vytvořit potenciálně výbušné kovové azidy. Aby se zabránilo tvorbě azidů, propíchněte potrubí při likvidaci extrakčního roztoku nebo extrahovaných vzorků velkým množstvím vody.
- Vlhkost a teplota mohou nepříznivě ovlivnit výsledky testu.
- Komponenty testu (např. Protilátky/chemikálie) nepředstavují žádné nebezpečí pokud je test použit dle návodu.
- Držte se důkladně návodu k použití. Informujte pacienty jak postupovat při odběru vzorku a při ředění vzorku stolice.

8. Odběr a příprava vzorku

Podmínky pro optimální odběr vzorku

Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen k použití s lidskými vzorky stolice, které byly zředěny dodávaným puforem.

Detekce viru se podaří nejlépe, je-li vzorek odebrán krátce po nástupu symptomů onemocnění. Bylo zjištěno, že maximální vylučování rotavirů ve stolici pacientů postižených gastroenteritidou nastává 2 až 5 dní po nástupu symptomů. V případě adenoviru nastává maximální vylučování cca 3-13 dnů po nástupu symptomů. Pokud je vzorek odebrán delší dobu po nástupu průjemových symptomů, je možné, že množství antigenů nebude dostačující k získání pozitivního výsledku nebo že detekované antigeny nesouvisí s průjemovým onemocněním.

Vzorky stolice by měly být skladovány při 2-8°C ihned po odběru a použity do 48 hodin. Delší skladování je možné při -20°C. Vyvarujte se opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorku.

Odběr a příprava vzorku pacientem

Pro odběr vzorku stolice obdrží pacient jednu ze zkumavek na odběr vzorku z testovací sady a jednu jednorázovou pipetu. Vzorky stolice by měly být odebrány následujícím způsobem:

1. Pro odběr vzorku může být použita jakákoliv čistá a suchá nádoba nebo vodu odpuzující papír. Zajistěte, aby vzorek stolice nepřišel do přímého kontaktu s vodou v toaletní míse, aby se předešlo zředění nebo kontaminaci s čisticími prostředky. Množství 1-2 mL nebo 1-2 g jsou dostačující.
2. Přeneste malé množství stolice do zkumavky na odběr vzorku.

V případě pevného vzorku:

Odšroubujte uzávěr zkumavky na odběr vzorku, poté zapichnete sondu na odběr vzorku do alespoň 3 různých míst na vzorku stolice a odeberte cca 50 mg stolice (odpovídající 1/4 hrášku).



V případě tekutého vzorku:

Pokud je stolice příliš řídká nato, aby se přichýtila na sondu, použijte přiložené jednorázové pipety. Držte pipetu vertikálně, nasajte stolicí a přeneste 2 kapky (cca 50 µL) do zkumavky na odběr vzorku obsahující ředící pufr.

3. Umístěte sondu zpět do zkumavky a uzavřete řádně zašroubujte.
4. Zatřepete zkumavkou na odběr vzorku, aby se vzorek promíchal s ředícím puforem. Dávejte pozor, aby se neodlomila špička zkumavky na odběr vzorku.
5. Vložte zkumavku na odběr vzorku do plastového sáčku. Uložte na chladném místě a vraťte lékaři během 24 hodin.



Poznámka:

Pokud si pacient nepřeje zředit vzorek stolice v odběrové zkumavce sám, může vrátit nádobu s nezředěným vzorkem stolice lékaři. Přenos vzorku do pufru ve zkumavce na odběr vzorku může být proveden pracovníky ordinace nebo laboratoře podle výše uvedeného návodu.

9. Provedení testu

1. Nechte test a zředěný vzorek stolice před testováním dosáhnout pokojové teploty (15-30°C).
2. Až budete připraveni provést test, vyjměte testovací kazetu z ochranné fólie. Aby se zabránilo srážení vlhkosti na membráně, musí mít testovací kazeta pokojovou teplotu. Označte testovací kazetu na vyznačeném místě identifikačními údaji pacienta nebo kontrolním označením.
3. Protřepete řádně odběrovou zkumavku, aby se důkladně promíchal vzorek stolice s ředícím puforem.
4. Za použití svého papíru odlomte špičku zkumavky.
5. Držte odběrovou zkumavku vertikálně a naneste 2-3 kapky směsi do kulatého otvoru na vzorek (S) na testovací kazetě tak, že jemně zmáčknete stěny zkumavky. Zamezte utváření vzduchových bublin v otvoru pro vzorek nebo vstříknutí tekutiny do obdélníkového výsledkového okénka.



6. Spusťte stopky. Po iniciaci testovacího procesu uvidíte jak červeně zbarvená tekutina putuje po membráně. Vyčkejte až se objeví barevná/barevné linie. Výsledek testu by měl být odečten po 10 minutách. Silně pozitivní výsledky mohou být viditelné dříve. Po 20 minutách již výsledek neodečítejte.

10. Vyhodnocení výsledků

Odečtěte výsledky testu tím, že vyhodnotíte barevné linie, která se objeví ve výsledkovém okně.

Pozitivní výsledek pro rotavirus, adenovirus nebo oba viry.**Rotavirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá barevná linie se zobrazí v oblasti testovací linie pro Rotavirus (R).

**Adenovirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá barevná linie se zobrazí v oblasti testovací linie pro Adenovirus (A).

**Rotavirus a Adenovirus pozitivní:**

Jedna barevná linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a dvě další barevné linie se zobrazí v oblastech testovacích linií pro Rotavirus (R) a Adenovirus (A).

**Poznámka:**

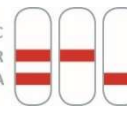
Intenzita barvy v oblastech testovacích linií (R/A) se může lišit v závislosti na koncentraci cílových antigenů přítomných ve vzorku. Každý barevný odstín v oblasti testovací linie by proto měl být vyhodnocen jako pozitivní. Tímto kvalitativním test nelze určit množství viru.

Negativní výsledek:

V oblasti kontrolní linie (C) se objeví barevná linie. V oblastech testovacích linií pro Rotavirus a Adenovirus se neobjeví žádná linie.

**Neplatný výsledek:**

Neobjeví se žádná testovací linie (C). Test, na kterém se neobjeví kontrolní linie v určeném čase musí být zlikvidován. Zrevidujte postup a opakujte s novým testem. Pokud problém přetrvá, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.



Nedostatečné množství vzorku, nedostatečná vzlínání vzorku po membráně nebo nesprávný postup při testování jsou nejčastějšími příčinami nezobrazení kontrolní linie. Zrevidujte testovací postup a proveďte test znovu s novou kazetou. Pokud bylo vzlínání vzorku znemožněno přítomností viditelných částic, měly by tyto být odstraněny odstředěním nebo sedimentací. Přeneste část vzorku do zkumavky, nechte částice sedimentovat krátkým odstředěním a nakapejte pipetou cca 80-120 µL supernatantu do otvoru pro vzorek na testovací kazetě. Alternativně můžete nechat částice usadit v odběrové zkumavce ve svislé poloze a použít 80-120 µL tekutiny z hladiny. Pokud problém přetrvá, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.

Poznámka: Při testování vzorku, se pozadí může zbarvit lehkou žlutou, což je způsobeno barvou vzorku stolice. Toto zbarvení je přijatelné, pokud není narušena možnost interpretaci výsledku testu. Test je neplatný pokud se pozadí nevyjasní a je zamezeno odečítání výsledku.

11. Kontrola kvality

Součástí testu je interní procedurální kontrola. Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je interní

procedurální kontrola. Svědčí o dostatečném množství vzorku, správné funkci membrány a správném postupu při testování.

12. Omezení

- Test NADAL® Rota-Adenovirus je určen pro profesionální *in-vitro* diagnostiku a měl by být používán pouze pro kvalitativní detekci rotavirů a adenovirů.
- Stejně jako u všech diagnostických testů by konečná diagnóza neměla být založena na výsledku jednoho testu, ale měla by být stanovena lékařem po zvážení všech klinických i laboratorních nálezů.
- Je-li výsledek testu negativní, ale klinické symptomy přetrvávají, je doporučeno provést další testy za pomoci jiné metody. Negativní výsledek za žádných okolností nevylučuje možnost infekce rotaviry či adenoviry.
- Aby se zabránilo vypuknutí pseudoepidemie, musí být pozitivní výsledky testu u novorozenců potvrzeny pomocí alternativní testovací metody (PCR).
- Pokud je ve vzorcích stolice přítomna viditelná krev, nelze vyloučit falešně pozitivní výsledky, a proto je třeba je ověřit pomocí alternativní testovací metody.

13. Výkonnostní charakteristiky

Výkonnost testu NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) byla hodnocena v porovnání s ELISA za pomoci 210 klinických vzorků odebraných od dětí a mladistvých. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Tabulka: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Adenovirus)		
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Celkem	82	128	210

Relativní senzitivita: >98,8%

Relativní specifita: >99,9%

Celková shoda: >99,5%

Výkonnost testu NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) byla hodnocena v porovnání s ELISA za pomoci 242 klinických vzorků odebraných od dětí a mladistvých. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Tabulka: Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus) vs. ELISA

		Test NADAL® Rota-Adenovirus (Rotavirus)		
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Celkem	79	163	242

Relativní senzitivita: >96,3%

Relativní specifita: >99,9%

Celková shoda: >98,8%

Křížová reaktivita

Křížová reaktivita s níže uvedenými organismy byla zjišťována při 1,0 x 10⁹ organismů/mL. Vzorky byly při testování testem NADAL® Rota-Adenovirus vyhodnoceny jako negativní.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Streptokok skupiny C
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
Streptokok skupiny B	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Reference

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003; vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 TF

1. Käyttötarkoitus

NADAL® Rota-Adenovirus Test on nopea visuaalinen immunomääritys rotaviruksen ja adenoviruksen kvalitatiiviseen havaitsemiseen ihmisen ulostenäytteistä. Tämä testi on tarkoitettu apuvälineeksi rotavirus- ja adenovirusinfektioiden diagnosoinnissa. Testi on tarkoitettu vain ammattimaiseen *in-vitro*-diagnostiseen käyttöön.

2. Johdanto ja kliininen merkitys

Rotavirus on yleisin pääasiassa pikkulapsilla akuuttia gastroenteriittiä aiheuttava patogeeni. Sen löytyminen vuonna 1973 ja sen yhdistäminen lapsuusiän gastroenteriittiin oli erittäin tärkeä edistysaskel akuutin ei-bakteeriperäisen gastroenteriitin tutkimuksessa. Rotavirus tarttuu uloste-suu -reitillä välityksellä, ja sen itämisäika on 1-3 päivää. Vaikka toisen ja viidennen sairastumispäivän välisenä aikana kerätyt näytteet ovatkin ihanteellisia antigeenin havaitsemiseen, rotavirus voidaan havaita vielä ripulin jatkuessa. Rotaviruksen aiheuttama gastroenteriitti voi johtaa kuolleisuuteen riskiryhmissä, kuten pikkulapsilla, vanhuksilla ja potilailla, joilla on heikentynyt immuunivaste. Lauhkean ilmastoin alueilla rotavirustartuntoja esiintyy pääasiassa talvikuukausina. Endemioita ja epidemioita, joissa on sairastunut tuhansia ihmisiä, on raportoitu. Jopa 50% sairaalahoitossa olleiden, akuuttia suolistotautia sairastavien lasten analysoiduista näytteistä oli positiivisia rotaviruksen suhteen. Virukset replikoituvat solun tumassa, ja niillä on taipumus tuottaa tyypillinen sytopaattinen vaikutus (CPE). Koska rotavirusta on erittäin vaikea viljellä, viruksen eristäminen infektion diagnosoimiseksi on hyvin epätavallista. Sen sijaan on kehitetty erilaisia tekniikoita rotaviruksen havaitsemiseksi ulosteesta.

Pienten lasten akuutit ripulitaudit ovat maailmanlaajuisesti merkittävä sairastuvuuden aiheuttaja ja johtava kuolinsyy kehittyvissä maissa. Tutkimukset ovat osoittaneet, että suolistoperäiset adenoviruset, kuten Ad40 ja Ad41, ovat myös yksi lasten ripulin merkittävimmistä aiheuttajista rotavirusten jälkeen. Näitä viruspatogeenia on tunnistettu kaikkialla maailmassa, ja ne voivat aiheuttaa lapsilla ripulia ympäri vuoden. Infektioita esiintyy useimmiten alle kaksivuotiailla lapsilla, mutta niitä on todettu myös kaikenikäisillä potilailla. Lisätutkimukset osoittavat, että adenoviruset liittyvät 4-15 prosenttiin kaikista sairaalahoitoon otetuista virusperäisistä gastroenteriittitapauksista.

Adenoviruksen aiheuttaman gastroenteriitin nopea ja tarkka diagnosointi on hyödyksi gastroenteriitin etiologian määrittämisessä sekä potilaan hoidossa. Muut diagnostiset menetelmät, kuten elektronimikroskopia (EM) ja nukleiinihappohybridisaatio, ovat kalliita ja työläitä. Koska adenovirusinfektio on luonteeltaan itsestään rajoittuva, tällaiset kalit ja työläät testit eivät välttämättä ole tarpeellisia.

3. Testiperiaate

NADAL® Rota-Adenovirus Test on suunniteltu havaitsemaan rotavirus ja adenovirus visuaalisen tulkin avulla, sisänsä rakennetun liuskan värimuutoksen perusteella.

Tässä määrityksessä rotavirus ja adenovirus havaitaan spesifisten vasta-aineiden avulla. Kun näyte (puskuriliuokseen

laimennettu uloste) on lisätty, värilematut vasta-aineet sitoutuvat spesifisesti kyseiseen virukseen, jos sitä on näytteessä. Kun nämä vasta-aine-viruskompleksit kulkeutuvat membraania pitkin kapillaarisesti, toinen rotavirukselle tai adenovirukselle spesifinen vasta-aine tarttuu niihin kyseessä olevan viruksen testiviivan alueella. Jos näytteessä on rotavirusta, punainen testiviiva muodostuu "R"-merkitylle alueelle. Jos näytteessä on adenovirusta, punainen testiviiva muodostuu "A"-merkitylle alueelle. Jos molempia viruksia on läsnä (sekainfektio), kaksi testiviivaa muodostuu. Mikäli virusta ei löydy, värilemattu vasta-aine ei sitoudu virusspesifisiin vasta-aineisiin testiviivojen alueilla. Punaisia testiviivoja ei muodostu. Näin ollen punaisen testiviivan läsnäolo osoittaa positiivisen tuloksen, kun taas sen puuttuminen osoittaa negatiivisen tuloksen.

Proseduraalisena kontrollina toimiva, kontrolliviivan alueelle muodostuva punainen kontrolliviiva osoittaa, että asianmukainen määrä näytettä on lisätty ja riittävä membraanille imeytyminen on tapahtunut.

4. Reagenssit ja mukana toimitetut materiaalit

- 10 yksittäispakattua NADAL® Rota-Adenovirus testikasettia
- 10 laimennuspurkin sisältävää näytteenottoputkea näytteen keräystä ja laimennusta varten
- 10 kertakäyttöistä pipettiä erittäin nestemäisten näytteiden keräämistä varten
- 1 pakkausseloste

5. Tarvittavat lisämateriaalit

Potilas:

- Välineet ulostenäytteen keräämiseksi.
- On varmistettava, että näytteet eivät joudu kosketuksiin WC-altaassa olevan veden kanssa, jotta vältetään laimentuminen tai kontaminoituminen esimerkiksi puhdistusaineilla. Erityiset näytteenkeräyspakkaukset ovat saatavilla nal von minden GmbH:ltä erikseen.

Klinikka tai laboratorio:

- Paperiliina näytteenottoputken kärjen katkaisemista varten
- Ajastin

6. Säilytys ja stabiilius

Säilytät testipakkaukset joko huoneenlämmössä tai jääkaappilämpötilassa (2-30°C).

Näissä olosuhteissa testikasetit ja näytteenlaimennuspurkit säilyvät stabiileina viimeiseen käyttöpäivään asti. Testikasetit on säilytettävä kuivausaineen sisältävissä suljetuissa pakkauksissaan käyttöön asti.

Älä pakasta.

Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen.

7. Varoitukset ja varoimet

- Vain ammattimaiseen *in-vitro*-diagnostiseen käyttöön.
- Vain kertakäyttöön. Älä käytä testejä uudelleen.
- Älä vaihda tai sekoita reagensseja toisista tuote-eristä.
- Älä käytä testejä, mikäli foliopakkaus on vahingoittunut.
- Älä käytä viimeisen käyttöpäivän jälkeen.
- Testi sisältää eläinperäisiä tuotteita. Sertifioitu tieto alkuperästä ja/tai eläinten terveydellisestä tilasta ei täysin takaa tarttuvien taudinaiheuttajien poissaoloa. Näin ollen on suositeltavaa, että näitä tuotteita käsitellään

mahdollisesti tartuttavina sekä noudattaen asianmukaisia varotoimia (esim. älä niele tai hengitä).

- Vältä näytteiden ristikontaminaatio käyttämällä aina uutta näytteenottoastiaa jokaiselle näytteelle.
- Älä syö, juo tai tupakoi alueella, jossa näytteitä ja testipakkausia käsitellään. Suojavarusteiden, kuten laboratoriotakin, kertakäyttökäsineiden ja suojalasien käyttö on suositeltavaa. Noudata mikrobiologisia vaaroja koskevia varotoimia testaamisen aikana. Noudata asianmukaisia määräyksiä koskien näytteiden hävittämistä.
- Näytteen laimennuspuskuri sisältää pienen määrän natriumatsidia joka voi reagoida lyijy- tai kupariputken kanssa muodostaen räjähdysvaarallisia metallisidesejä. Kun uuttoliuosta tai uutettuja näytteitä hävitetään, huuhtelee aina runsaalla vedellä astiiden kertymisen estämiseksi.
- Ilmankosteus ja lämpötila voivat vaikuttaa haitallisesti testituloksiin.
- Testin komponentit (esim. vasta-aineet/kemikaalit) eivät aiheuta vaaraa, jos testiä käytetään ohjeiden mukaisesti.
- Noudata ohjeita huolellisesti. Ohjeista potilaille ulostenäytteen keräämiseen ja laimentamiseen liittyvät menettelyt.

8. Näytteenotto ja valmistelu

Ihanteelliset näytteenotto-olosuhteet

NADAL® Rota-Adenovirus Test on tarkoitettu käytettäväksi vain ihmisen ulostenäytteille, jotka on laimennettu mukana toimitetulla puskurilla (buffer).

Näytteiden kerääminen ripulioireiden alkaessa edistää virusten havaitsemista. On raportoitu, että rotaviruksen suurin erittyminen gastroenteritiipotilaiden ulosteeseen tapahtuu 2-5 päivää oireiden alkamisen jälkeen. Adenoviruksen suurin erittyminen tapahtuu noin 3-13 päivän kuluttua oireiden alkamisesta. Jos näytteet kerätään kauan ripulioireiden alkamisen jälkeen, antigeenien määrä ei välttämättä riitä positiivisen tuloksen saamiseen tai havaitut antigeenit eivät välttämättä liity ripulijaksoon.

Ulostenäytteet tulee säilyttää 2-8°C lämpötilassa heti keräämisen jälkeen ja prosessoida 48 tunnin sisällä. Pidempiaikainen säilytys on mahdollista -20°C lämpötilassa. Näytteiden toistuvaa pakastamista ja sulattamista tulee välttää.

Potilaan suorittama näytteenotto ja valmistelu

Ulostenäytteen keräämistä varten potilaalle annetaan yksi testipakkauksen näytteenottoputkista ja kertakäyttöinen pipetti. Ulostenäyte tulee kerätä seuraavasti:

1. Näytteenottoon voidaan käyttää mitä tahansa puhdasta ja kuivaa astiaa tai vettä hylkivää paperia. Varmista, että ulostenäyte ei tule suoraan kosketukseen WC-altaan veden kanssa, jotta vältetään laimentaminen tai kontaminaatio puhdistusaineilla. 1-2 mL tai 1-2 g ulostemäärä on riittävä.

2. Siirrä pieni määrä ulostetta näytteenottoputkeen:

Kiinteille näytteille:

Kierrä näytteenottoputken korkki auki ja pistä näytteenottovälineellä satunnaisesti vähintään kolmeen eri kohtaan



ulostenäytettä, jotta saadaan kerättyä noin 50 mg ulostetta (vastaa 1/4 herneen koosta).

Nestemäisille näytteille:

Jos uloste on liian nestemäistä tarttuakseen välineeseen, mukana toimitettua kertakäyttöpipettiä voidaan käyttää. Pidä pipetti pystysuorassa, aspiroi hieman ulostetta ja annostele sitten 2 tippaa (noin 50 µL) näytteenottoputkeen, joka sisältää laimennuspuskurin.

3. Laita väline takaisin putkeen ja kierrä korkki tiiviisti kiinni.
4. Ravista näytteenottoputkea näytteen ja laimennuspuskurin sekoittamiseksi. Varo, ettet riko näytteenottoputken kärkeä.
5. Kääri näytteenottoputki muovipussiin. Säilytä viileässä paikassa ja palauta klinikalle 24 tunnin kuluessa.

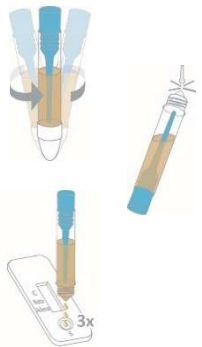


Huom:

Jos potilas ei halua itse laimentaa ulostenäytettä näytteenottoputkessa, hän voi palauttaa klinikalle astian, jossa on käsittelemätön ulostenäyte. Tämän jälkeen klinikan tai laboratorion henkilökunta voi siirtää näytteen näytteenottoputken puskuuriin edellä kuvatulla tavalla.

9. Testin suorittaminen

1. Anna testivälineiden ja laimennetun ulostenäytteen mukautua huoneenlämpöön (15-30°C) ennen testaamista.
2. Poista testikasetti sen pakkauksesta, kun olet valmis suorittamaan testin. Testikasetin on oltava huoneenlämmössä, jotta estetään kosteuden tiivistyminen membraanille. Merkitse testikasetin sille varattuun tilaan potilaan tai kontrollin tunnistetiedot.
3. Ravista keräysputkea perusteellisesti, jotta ulostenäyte ja laimennuspuskuri sekoittuvat kunnolla.
4. Riko näytteenottoputken pää kiertävällä liikkeellä paperiliinan palaa käyttäen.
5. Pitele näytteenottoputkea pystysuorassa ja annostele 2-3 tippaa liuosta testikasetin näyteaukkoon (S) painamalla kevyesti putken seinämiä. Vältä ilmakuplien muodostumista näyteaukkoon tai läikyttämistä nestettä suorakaidemaiselle tulosalueelle.
6. Käynnistä ajastin. Kun testi alkaa toimia, näet punertavan nesteen liikkuvan membraania pitkin.



10 min

Odota väriviivojen muodostumista. Tulos tulee lukea 10 minuutin jälkeen. Vahvasti positiiviset tulokset saattavat näkyä jo aiemmin. Älä tulkitse tuloksia enää 20 minuutin jälkeen.

10. Tulosten tulkinta

Testitulosten lukemista varten tulkitaan testitulosalueelle muodostuvat väriviivat.

Positiivinen tulos rotavirukselle, adenovirukselle tai molemmille viruksille

Positiivinen rotavirus:

Väriviiva muodostuu kontrolliviivan alueelle (C) ja toinen väriviiva muodostuu rotaviruksen testiiviivan alueelle (R).



Positiivinen adenovirus:

Väriviiva muodostuu kontrolliviivan alueelle (C) ja toinen väriviiva muodostuu adenoviruksen testiiviivan alueelle (A).



Positiivinen rotavirus ja adenovirus:

Väriviiva muodostuu kontrolliviivan alueelle (C) ja kaksi muuta väriviivaa ilmestyy, sekä rotaviruksen (R) että adenoviruksen (A) testiiviivojen alueille.



Huom:

Väriiviivojen voimakkuus testiiviivojen alueilla (R/A) voi vaihdella näytteessä olevien kohdeantigeenien pitoisuuden mukaan. Näin olleen kaikki värisävyt testialueella tulee tulkita positiiviseksi. Virusten määrää ei voida määrittää tällä kvalitatiivisella testillä.

Negatiivinen tulos:

Yksi viiva muodostuu kontrolliviivan alueelle (C). Viivoja ei muodostu rotaviruksen tai adenoviruksen testiiviivojen alueille.



Mitätön tulos

Kontrolliviivan (C) muodostuminen epäonnistuu. Kaikki testitulokset, joiden yhteydessä kontrolliviiva ei ole muodostunut ilmoitetun lukuajan puitteissa, tulee hylätä. Lue käyttöohjeet huolellisesti uudelleen ja toista testi uudella testikasetilla. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testien käyttö välittömästi ja ota yhteys myyjään.



Riittämätön näytemäärä, riittämätön näytteen imeytyminen tai väärä testin suoritustapa ovat yleisimpiä syitä kontrolliviivan epäonnistumiselle. Lue käyttöohjeet huolellisesti uudelleen ja toista testaus uudella testikasetilla. Jos näkyvät partikkelit estävät näytteen imeytymisen, ne on poistettava sentrifugoimalla tai sedimentoimalla. Siirrä osa näytteestä putkeen, sedimentoi partikkelit lyhyellä sentrifugoinnilla ja pipetoi noin 80-120 µL supernatanttia uuden testikasetin näyteaukkoon. Vaihtoehtoisesti voit antaa partikkelien laskeutua pystyssä olevassa näytteenottoputkessa ja käyttää 80-120 µL nesteen yläosasta. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testien käyttö välittömästi ja ota yhteys myyjään.

Huom: Kun ulostenäytteitä testataan, tausta voi näyttää hieman kellertävältä johtuen ulostenäytteiden väristä. Tämä on hyväksyttävää, kunhan se ei häiritse testituloksen tulkintaa.

Testi on virheellinen, jos tausta ei selkiydy ja estää tuloksen lukemisen.

11. Laadunvarmistus

Testikasetti sisältää sisäänrakennetun laatukontrollin. Kontrolliviivan alueella (C) näkyvä väriviiva on sisäinen toimintakontrolli. Sillä varmistetaan riittävä näytemäärä, oikea suoritustekniikka ja näytteen riittävä imeytyminen membraanille.

12. Rajoitukset

- NADAL® Rota-Adenovirus Test on tarkoitettu ainoastaan ammatillaiseen *in-vitro* -diagnostiikkaan, ja sitä tulee käyttää ainoastaan rota- ja adenovirusten kvalitatiiviseen havaitsemiseen.
- Kuten kaikkien diagnostisten testien kohdalla, lopullisen kliinisen diagnoosin ei tulisi perustua yksittäiseen testitulokseen, vaan lääkärin olisi tehtävä se sen jälkeen, kun kaikki kliiniset ja laboratoriölödykset on arvioitu.
- Mikäli kliiniset oireet jatkuvat negatiivisesta tuloksesta huolimatta, lisätestauksia muilla kliinisillä menetelmillä suositellaan. Negatiivinen tulos ei milloinkaan poissulje rota- tai adenovirusinfektion mahdollisuutta.
- Pseudo-taudinpurkausten ehkäisemiseksi vastasyntyneiden positiiviset testitulokset on varmistettava vaihtoehtoisella testimenetelmällä (PCR).
- Jos ulostenäytteissä on näkyvää verta, väärä positiivisia tuloksia ei voida poissulkea, ja ne on siksi tarkistettava vaihtoehtoisella testimenetelmällä.

13. Suoritusominaisuudet

NADAL® Rota-Adenovirus Testin (adenovirus) suorituskykyä arvioitiin 210:lla lapsilla ja nuorilla aikuisilla kerätyllä kliinisellä näytteellä verrattuna ELISA-testiin. Tulokset ovat luettavissa alla olevassa taulukossa:

Taulukko: NADAL® Rota-Adenovirus Test (adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (adenovirus)		
		+	-	Yhteensä
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Yhteensä	82	128	210

Suhteellinen sensitiivisyys: >98,8 %

Suhteellinen spesifisyys: >99,9 %

Kokonaisyhtäpitävyys: >99,5 %

NADAL® Rota-Adenovirus Testin (rotavirus) suorituskykyä arvioitiin 242:lla lapsilla ja nuorilla aikuisilla kerätyllä kliinisellä näytteellä verrattuna ELISA-testiin. Tulokset ovat luettavissa alla olevassa taulukossa:

Taulukko: NADAL® Rota-Adenovirus Test (rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (rotavirus)		
		+	-	Yhteensä
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Yhteensä	79	163	242

Suhteellinen sensitiivisyys: >96,3 %

Suhteellinen spesifisyys: >99,9 %

Kokonaisyhtäpitävyys: >98,8 %

Ristireaktiivisuus

Ristireaktiivisuutta jäljempänä lueteltujen organismien kanssa on tutkittu $1,0 \times 10^9$ organismia/mL. Kaikki näytteet todettiin negatiivisiksi, kun testattiin NADAL® Rota-Adenovirus Testillä.

<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	Ryhmän <i>C Streptococcus</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria meningitides</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
Ryhmän <i>B Streptococcus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Lähteet

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April, 2003, vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 OL

1. Bruksområde

NADAL® Rota-Adenovirus Test er en immunologisk hurtigstest for kvalitativ deteksjon av rotavirus og adenovirus i humane avføringsprøver. Denne testen er ment å bli brukt som hjelpemiddel ved diagnosen rotavirus- og adenovirus-infeksjoner. Testen er kun beregnet for profesjonell *in-vitro* diagnostisk bruk.

2. Introduksjon og klinisk signifikans

Rotavirus er det vanligste patogenet som er ansvarlig for akutt gastroenteritt, hovedsakelig hos små barn. Dens oppdagelse i 1973 og forening med infantil gastroenteritt representerte en svært viktig fremgang i studien av akutt ikke-bakteriell gastroenteritt. Rotavirus overføres via oro-faecal ruten med en inkubasjonsperiode på 1-3 dager. Selv om prøvene samlet mellom den andre og femte dagen med sykdom er ideelle for antigeneteksjon, kan rotavirus fortsatt oppdages mens diaré fortsetter. Rotaviral gastroenteritt kan føre til dødelighet for utsatte grupper, som spedbarn, eldre og immun-kompromitterte pasienter. I moderat klima forekommer rotavirale infeksjoner hovedsakelig i vintermånedene. Endemikk og epidemier som påvirker tusenvis av mennesker har blitt rapportert. Opptil 50% av de analyserte prøvene fra sykehuspasienter (barn) som lider av akutt entrisk sykdom var positive for rotavirus. Virusene replikerer i cellekjernen og har en tendens til å produsere en karakteristisk cytopatisk effekt (CPE). Fordi rotavirus er ekstremt vanskelig å kulturerer, er det uvanlig å isolere viruset til diagnose av infeksjon. I stedet har en rekke teknikker blitt utviklet for å oppdage rotavirus i avføring.

Akutt diarésykdom hos små barn er en viktig årsak til sykdom over hele verden og er en ledende årsak til dødelighet i utviklingsland. Forskning har vist at enteriske adenovirus, som Ad40 og Ad41, også er en av de viktigste årsakene til diaré hos barn, i tillegg til rotaviruset. Disse viruspatogenene er blitt identifisert over hele verden og kan forårsake diaré hos barn hele året. Infeksjoner er hyppigst oppdaget hos barn under to år, men har også blitt funnet hos pasienter i alle aldre. Videre studier tyder på at adenovirus er assosiert med 4-15% av alle sykehusinnlagte pasienter med viral gastroenteritt.

Hurtig og nøyaktig diagnose av gastroenteritt forårsaket av adenovirus hjelper med å etablere etiologi av gastroenteritt og tilhørende pasientbehandling. Andre diagnostiske teknikker som elektronmikroskopi (EM) og nukleinsyrehybridisering er dyre og arbeidsintensive. På grunn av den selvbegrensede arten av adenoviral infeksjon, trenger ikke slike dyre og arbeidskrevende tester være nødvendig.

3. Testprinsipp

NADAL® Rota-Adenovirus Test er utviklet for å detektere rotavirus og adenovirus gjennom visuell inspeksjon av fargeutvikling på den indre strimmel.

I denne analysen oppdages rotavirus og adenovirus ved hjelp av spesifikke antistoffer. Etter tilsetning av prøve (avføring fortynnet i buffer) binder de fargemerkede antistoffene spesifikt til det respektive virus dersom det er tilstede i prøven. Når disse antistoff-viruskompleksene migrerer langs membranen ved kapillærveirning, blir de fanget av et annet antistoff spesifikt mot rotavirus eller adenovirus i

testlinjeområdet for det respektive virus. Hvis rotavirus er til stede i prøven, utvikles en rød testlinje i den "R" -merkede regionen. Hvis adenovirus er tilstede i prøven, utvikles en rød testlinje i den "A" -merkede regionen. Hvis begge virusene er tilstede (blandet infeksjon) vil to testlinjer utvikles. Hvis det ikke foreligger virus, vil ikke det fargemerkede antistoffet binde seg til de virussspesifikke antistoffene i testlinjeområdet. Ingen rød test linje kommer til syne. Tilstedeværelsen av den fargede linjen indikerer et positivt resultat, mens dens fravær indikerer et negativt resultat.

Som en prosedyrekontroll, skal en farget linje alltid vises i kontrollinjeområdet, noe som indikerer at tilstrekkelig volum av prøven er tilsatt og membranvike har oppstått.

4. Reagenser og levert Materialet

- 10 individuelt forpakket NADAL® Rota-Adenovirus testkassetter.
- 10 prøveinnsamlingsrør med prøvefortynningsbuffer for prøveinnsamling og fortykning.
- 10 disponible pipetter for prøveinnsamling av ekstremt flytende prøver
- 1 Pakkeseddel

5. Tilliggelsesmaterier

Pasient:

- Midler til å samle en avføringseksempel.
Det bør sikres at prøver ikke har kontakt med vannet i toalettet for å unngå fortykning eller forurensning med e. g. vaskemidler. Spesielle avføringsinnsamlings enheter kan leveres av nal von minden GmbH på forespørsel.

Klinikk eller lab:

- Papir for å bryte spissen av prøveinnsamlingsrør
- Timer

6. Oppbevaring & Stabilitet

Oppbevar testen som pakket enten ved romtemperatur eller i kjøleskap (2-30°C).

Under disse forhold er testkassetten og prøvefortynningsmiddelbufferen stabil til utløpsdatoen. Testkassetten bør forbli i den forseglede emballasjen som inneholder et tørkemiddel helt fram til bruk.

Skal ikke fryses.

Ikke bruk etter utløpsdatoen.

7. Advarsler og Forholdsregler

- Bare for profesjonelt *in-vitro* diagnostisk bruk.
- For engangsbruk. Ikke gjenbruk tester.
- Ikke utveksle eller bland reagenser fra forskjellige partier.
- Ikke bruk testen om emballasjen er skadet.
- Bruk ikke testen etter utløpsdatoen.
- Testsettet inneholder produkter av animalsk opprinnelse. Sertifisert kunnskap om opprinnelse og/eller sanitær tilstand av dyrene garanterer ikke fravær av smittestoffer. Det anbefales derfor at disse produktene behandles som potensielt smittsomme og håndteres ved å observere vanlige sikkerhetstiltak (f.eks. Ikke inntas eller innåndes).
- Unngå krysskontaminering av prøver ved hjelp av en ny prøveinnsamlingsbeholder for hver analyse som utføres.

- Ikke spis, drikk eller røyk i området der prøvene eller prøvekit håndteres. Beskyttelsesklær som laboratoriejakker, engangshansker og beskyttende briller anbefales. Følg etablerte forholdsregler mot mikrobiologiske farer under utføringen av analysen. Følg standard prosedyrer for riktig avhending av prøver i henhold til lokale forskrifter.
- Prøvefortynnings bufferen inneholder en liten mengde av natrium azide som kan reagere med bly eller kobber vann for å danne potensielt eksplosive metallazider. Ved avhending av ekstraksjonsoppløsning eller ekstraherte prøver, skyl alltid med store mengder vann for å forhindre azidoppygging.
- Fuktighet og temperatur kan påvirke resultatene.
- Komponentene i testen (for eksempel antistoffer/kjemikalier) forårsaker ingen fare hvis testen brukes i henhold til instruksjonene.
- Følg instruksjonen nøye. Informer pasientene om prosedyrene for innsamling og fortynning av avføringprøven.

8. Prøvetaking og Klargjøring

Betingelser for optimal prøveinnsamling

NADAL® Rota-Adenovirus Tester kun beregnet for bruk med humane avføringsprøvee som er fortynnet i bufferen.

Viral deteksjon settes i gang ved å samle prøver ved utbrudd av diarésymptomer. Det har blitt rapportert at maksimal utskillelse av rotavirus i avføring hos pasienter med gastroenteritt oppstår 2-5 dager etter symptomstart. For adenovirus er maksimal utskillelse ca 3-13 dager etter symptomstart. Hvis prøvene samles lenge etter utbruddet av diarésymptomer, kan mengden av antigen ikke være tilstrekkelig til å oppnå et positivt resultat, eller de oppdagede antigenene trenger ikke nødvendigvis å knyttes til diaré episoden.

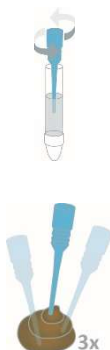
Avføringsprøver bør oppbevares i 2-8°C umiddelbart etter innsamling og analysen bør utføres i løpet av 48 timer. Lengre oppbevaring er mulig ved -20°C. Gjentatt frysing og tining av prøver bør unngås.

Prøveinnsamling og forberedelser av pasienten
Ved innsamling av avføring blir pasienten gitt ett av prøveinnsamlingsrørene i testsettet og en engangspipette. Avføringsprøver skal samles på følgende måte:

1. En ren og tørr beholder eller et vannavisende papir kan brukes til prøveinnsamling. Sørg for at avføringen ikke har direkte kontakt med toalettet for å unngå fortynning eller forurensning med vaskemidler. En mengde på 1-2 mL eller 1-2 g avføring er tilstrekkelig.
2. Overfør en liten del av avføringen til prøveinnsamlingsrøret:

For faste prøver:

Skrv på lokket på prøveopsamlingsrøret, og stikk deretter prøveinnsamlings-applikatoren tilfeldig på minst 3 forskjellige steder i avføringsprøven for å samle ca. 50 mg avføring (tilsvarende 1/4 av en ert).



For væskeprøver:

Hvis avføringen er for rinnende for å holde fast på applikatoren, kan den medfølgende disponible pipetten brukes. Hold pipetten vertikalt, aspirer litt avføring, og overfør deretter 2 dråper (ca. 50 µL) inn i prøveinnsamlingsrøret som inneholder fortynningsbufferen.

3. Plasser applikatoren tilbake i røret og skru på lokket tett.
4. Rist prøvetakingsrøret kraftig for å blande prøven og den prøvefortynnete bufferen. Pass på at du ikke brekker spissen av fortynningsrøret.
5. Legg prøveinnsamlingsrøret i en plastpose. Oppbevar det på et kjølig sted og returner det til klinikken innen 24 timer.

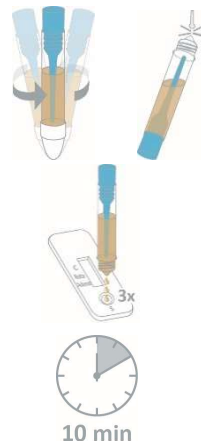


Merk:

Hvis pasienten føler seg ubekvem med å fortynne avføringsprøven i innsamlingsrøret selv, kan han/hun returnere en beholder med ubehandlet avføring til klinikken. Overføringen av prøven til bufferen i prøveopsamlingsrøret kan da utføres som beskrevet ovenfor av personell fra klinikken eller laboratoriet.

9. Test Prosedyre

1. La testenheten og den fortynnete avføringen oppnå romtemperatur (15-30°C) før analysen utføres.
2. Fjern testkassetten fra emballasjen like før analysen skal utføres. Testkassetten må oppnå romtemperatur for å forhindre kondensering av fuktighet på membranen. Merk testkassetten med pasient eller kontrollidentifikasjon.
3. Rist prøveinnsamlingsrøret grundig for å sikre riktig blanding av prøven med fortynningsmiddelet (bufferen).
4. Ved hjelp av et stykke papir, bryt tuppen av innsamlingsrøret ved hjelp av en vridende bevegelse.
5. Hold oppsamlingsrøret vertikalt og dispensere 2-3 dråper løsning i prøvekassettenes runde prøvebrønn (S) ved å påføre et forsiktig trykk på rørets vegger. Unngå luftbobler i prøvebrønnen eller sprut av væske inn i det rektangulære resultatvinduet.
6. Start timer. Når testen begynner å virke vil en røddaktig farget væskefront bevege seg over membranen.



Vent til den fargede linjen(e) vises. Resultatet må leses etter 10 minutter. Klare positive resultat kan observeres tidligere. Ikke tolk resultatet etter mer enn 20 minutter.

10. Tolkning av resultatet

Testresultatene tolkes ut i fra de fargede linjene som utvikles i testresultatvinduet.

Positive resultat Rotavirus, Adenovirus eller begge virus

Rotavirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C), og en annen farget linje utvikles i testlinjeområdet for Rotavirus (R).



Adenovirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C), og en annen farget linje utvikles i testlinjeområdet for Adenovirus (A).



Rotavirus og Adenovirus Positiv:

En farget linje utvikles i kontroll-linjeområdet (C) og to andre fargede linjer utvikles i henholdsvis testlinjene for henholdsvis Rotavirus (R) og Adenovirus (A).



Merk:

Fargens intensitet i testlinje regionene (R/A) kan variere avhengig av konsentrasjonen av antigenene tilstede i prøven. Derfor bør alle nyanser av fargen i testlinjeområdet vurderes som et positivt test resultat. Mengden av viruset tilstede i prøven kan ikke bestemmes av denne kvalitative testen.

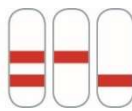
Negative resultat:

En grønn linje utvikler seg i kontroll-linjeområdet (C). Ingen linje utvikles i testlinjeområder for Rotavirus og Adenovirus.



Ugyldig resultat:

Kontrolllinjen (C) uteblir. Resultater fra tester som ikke har produsert en kontroll linje på den angitte lesetid må kastes. Gå gjennom prosedyren og gjenta testen med en ny testkassett. Hvis problemet vedvarer må du slutte å bruke testsettet umiddelbart og kontakte din forhandler.



Utilstrekkelig prøvevolum eller feil prosedyreteknikk er de vanligste årsakene til manglende kontrolllinje. Gå gjennom prosedyren og gjenta testen med en ny testkassett. Hvis tilstedeværelsen av synlige partikler hemmet prøvemigrasjonen, bør de fjernes ved sentrifugering eller sedimentering. Overfør en del av prøven til en tube, sedimenter partiklen med en kort sentrifugering og pipetter ca. 80-120 µL av supernatant i prøvebrønnen på den nye test kassetten. Alternativt tillat partiklene å legge seg i innsamlingsrøret for oppsamling av prøver og bruk 80-120 µL fra væskens overflate. Hvis problemet vedvarer, må du slutte å bruke testsettet umiddelbart og ta kontakt med din lokale forhandler.

Merk: Når avføringsprøver analyseres, kan bakgrunnen virke litt gulaktig på grunn av avføringsprøvens farge. Dette er akseptabelt så lenge det ikke forstyrrer tolkningen av

testresultatet. Testen er ugyldig hvis bakgrunnen tilslører lesing av resultatet.

11. Kvalitetskontroll

En intern prosedyrekontroll er inkludert i testkassetten. En farget linje som vises i kontrolllinjeområdet (C) fungerer som en intern prosesskontroll. Det bekrefter tilstrekkelig prøvevolum og riktig prosedyreteknikk.

12. Begrensninger

- NADAL® Rota-Adenovirus testen er utviklet for profesjonell *in-vitro* diagnostisk bruk, og bør kun brukes til kvalitativ deteksjon av rotavirus og adenovirus.
- Som med alle diagnostiske tester, bør en definitiv klinisk diagnose ikke være basert på resultatene av en enkelt test, men bør utføres av lege etter at alle kliniske funn og laboratoriefunn har blitt evaluert.
- Hvis testresultatet er negativt og kliniske symptomer vedvarer anbefales ytterligere testing ved bruk av andre kliniske metoder. Et negativt resultat utelukker ikke på noe tidspunkt muligheten for rotavirus eller adenovirus injeksjon.
- For å forhindre pseudo-utbrudd, må positive testresultater i nyfødte bekrefte ved hjelp av en alternativ testmetode (PCR).
- Hvis det er synlig blod i faecalprøver, kan ikke falske positive resultater utelukkes og må derfor verifiseres ved hjelp av en alternativ testmetode.

13. Ytelseskarakteristikk

Utførelsen av NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus) er evaluert med 210 kliniske prøver samlet fra barn og unge og sammenlignet med referansemetoden ELISA. Resultatene er presentert i tabellen nedenfor:

Tabell: NADAL® Rota-Adenovirus test (Adenovirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Adenovirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	82	1	83
	-	0	127	127
	Total	82	128	210

Relativ sensitivitet: >98,8%

Relativ spesifisitet: >99,9%

Total overensstemmelse: >99,5%

Utførelsen av NADAL® Rotavirus Test (Rotavirus) er evaluert med 242 kliniske prøver samlet fra barn og unge og sammenlignet med referansemetoden ELISA. Resultatene er presentert i tabellen nedenfor:

Tabell: Rota-Adenovirus test (Rotavirus) vs. ELISA

		NADAL® Rota-Adenovirus Test (Rotavirus)		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
	Total	79	163	242

Relativ sensitivitet: >96,3%

Relativ spesifisitet: >99,9%

Total overensstemmelse: >98,8%

Kryssreaktivitet











Kryssreaktivitet med de organismer som er listet opp nedenfor har blitt studert med 1.0×10^9 organisms/mL. Disse prøvene ble funnet negative når de ble testet med NADAL® Rota-Adenovirus testen.











<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Gruppe C Streptokokker</i>
<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Klamydia trachomatis</i>	<i>Neisseria</i>
<i>E. coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>
<i>Gruppe B Streptokokker</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>

14. Referanser

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wilhelmi I, Roman E, Sanchez-Fauquier A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003; vol.9:247-262.
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.
6. Tan B F et al. Pseudo-outbreak of rotavirus infection in a neonatal intensive care unit. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 2016; 49:947e954
7. Jones N K et al. Adenovirus pseudo-outbreak in a large UK neonatal intensive care unit. American Journal of Infection Control 2018; 46(12):1411–1413

Rev. 2, 2019-05-23 KD

Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	CE Konformitätszeichen	CE marking of conformity	Conforme aux normes européennes	Conformidad europea	Conformità europea	Znak zgodności CE
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consúltense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	<i>in-vitro</i> -Diagnostika	<i>in-vitro</i> diagnostic medical device	Dispositif médical de diagnostic <i>in-vitro</i>	Producto sanitario para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Dispositivo medico- diagnostico <i>in-vitro</i>	Tylko do diagnostyki <i>in-vitro</i>
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Limite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
	Chargenbezeichnung	Batch code	Numéro de lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbicante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizaciones	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk	Norsk
	Conformidade com as normas europeias	CE certifikát	CE-merkitty	CE-märkning	CE-markering	CE-mærkning	CE standardisert
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen	Les bruksanvisning nøye
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in-vitro</i>	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in-vitro</i>	<i>in-vitro</i> - diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite	Medicinteknisk produkt avsedd för <i>in-vitro</i> -diagnostik	Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> diagnostiek	Medicinsk udstyr til <i>in-vitro</i> -diagnostik	<i>in-vitro</i> diagnostic medisinsk enhet
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperatur- begränsning	Temperatuurlimiet	Temperatur- begrænsning	Temperatur begrænsning
	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode	Merkning
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges	Må ikke brukes om igjen
	Prazo de validade	Spotřebuje do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato	Tidtaking
	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il lingsnummer	Katalog nummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant	Produsent
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test	Tilstrækkelig for<n> tester

Our Teams

Germany:**Regensburg**

Tel: +49 941 290 10-0
Fax: +49 941 290 10-50

Moers

Tel: +49 2841 99820-0
Fax: +49 2841 99820-1

Austria:

Tel: +49 941 290 10-29
Free Tel: 0800 291 565
Fax: +49 290 10-50
Free Fax: 0800 298 197

UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18
Free Tel – UK: 0808 234 1237
Free Tel – IRE: 1800 555 080
Fax: +49 290 10-50

France:

France Tel: 0800 915 240
France Fax: 0800 909 493

Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720
Swiss Fax: 0800 837 476

Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82
Belgium Fax: 0800 747 07

Luxembourg

Lux, Tel: 800 211 16
Lux, Fax: 800 261 79

Spain:

Tel: +49 941 290 10-759
Free Tel: 900 938 315
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 900 984 992

Italy:

Tel: +49 941 290 10-34
Fax: +49 941 290 10-50

Poland:

Tel: +49 941 290 10-44
Free Tel: 00 800 491 15 95
Fax: +49 941 290 10-50
Free Fax: 00 800 491 15 94

Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735
Tel, Verde: 800 849 230
Fax: +49 941 290 10-50
Fax Verde: 800 849 229

Netherlands:

Tel: +31 30 75 600
Free Tel: 0800 0222 890
Fax: +31 70 30 30 775
Free Fax: 0800 024 9519

Nordic countries:**Denmark**

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 808 887 53

Finland

Tel: +31 703075 606
Free Tel: 0800 918 263
Free Fax: 0800 918 262

Norway

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 800 16 731

Sweden

Tel: +31 703075 605
Free Tel: 020 79 09 06

Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40
Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

www.nal-vonminden.com • info@nal-vonminden.com

Tel: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1