

## RIDASCREEN® Rotavirus

**REF** C0901



## 1. Campo di applicazione

Per uso diagnostico *in vitro*. RIDASCREEN® Rotavirus è un test immunoenzimatico per la rilevazione qualitativa di rotavirus in campioni di feci umane.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

I rotavirus sono i principali agenti patogeni della gastroenterite non batterica nei bambini di età compresa tra i 6 mesi e i 3 anni. Sono tuttavia riscontrati, come agenti patogeni, anche nei bambini grandi e negli adulti. Nei gruppi a rischio, ovvero nei bambini e negli anziani o nei pazienti immunodepressi, queste infezioni possono essere fatali.

L'insorgenza delle infezioni da rotavirus si verifica spesso nei mesi invernali. Sono state altresì descritte affezioni endemiche ed epidemiche con alcune migliaia di soggetti colpiti. Nei bambini ricoverati affetti da enterite acuta, fino al 50% dei campioni testati sono risultati positivi per rotavirus. I rotavirus trasmessi per via oro-fecale vengono espulsi in grosse quantità a livello intestinale. Pertanto, le infezioni nosocomiali da rotavirus sono particolarmente temute nei reparti neonatali e nelle cliniche pediatriche e la loro gestione è difficile. Un metodo di rilevazione precoce e attendibile assume pertanto un'estrema importanza per l'identificazione di rotavirus per evitare ulteriori infezioni.

Non è stato possibile rilevare i rotavirus finché non è diventato possibile esaminare i campioni di feci e il materiale bioptico al microscopio elettronico – oggi questo è il metodo di rilevazione standard. Un altro sviluppo è l'identificazione nelle colture cellulari *in vitro*. Tuttavia, dato che questo approccio è difficile e richiede molto tempo, non trova impiego di routine nella rilevazione di rotavirus. Gli esami sierologici possono soltanto contribuire alla sicurezza diagnostica di una enterite da rotavirus, in quanto gli anticorpi IgM sono rilevabili solo a partire dal quinto giorno dall'inizio della patologia. Questa tecnica non consente quindi una diagnosi precoce.

Il test RIDASCREEN® Rotavirus è un immunodosaggio enzimatico semplice e altamente sensibile che rende possibile un'identificazione precoce e affidabile degli antigeni del rotavirus. Inoltre, permette di elaborare in tempi minori anche campioni più grandi.

## 3. Principio del test

Nel test RIDASCREEN® Rotavirus gli anticorpi monoclonali sono posizionati a sandwich. Un anticorpo monoclonale al prodotto del 6° gene virale (VP6) viene rivestito sulla superficie dei pozzetti della piastra per microtitolazione. Si tratta di un antigene specifico del gruppo, presente in tutti i *rotavirus* patogeni per l'uomo. Una sospensione del campione di feci da esaminare e i controlli vengono introdotti nel pozzetto della piastra per microtitolazione insieme ad anticorpi anti-rotavirus monoclonali biotinilati (Coniugato 1) mediante pipetta a temperatura ambiente (20 - 25 °C) per l'incubazione. Dopo il lavaggio aggiungere il poli-coniugato streptavidina-

perossidasi (Coniugato 2) e incubare nuovamente a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

Alla presenza di rotavirus nel campione di feci si forma un complesso a sandwich composto dagli anticorpi immobilizzati, gli antigeni rotavirus e gli anticorpi coniugati con il complesso biotina-streptavidina-perossidasi. Un altro lavaggio rimuove il poli-coniugato streptavidina-perossidasi non legato. Nei campioni positivi, l'aggiunta di un substrato trasforma l'enzima legato da una soluzione incolore in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica da blu a giallo. L'estinzione è proporzionale alla concentrazione di rotavirus presenti nel campione.

#### 4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96	Piastra per microtitolazione, 12 strisce di micropozzetti (separabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con anticorpi monoclonali specifici anti-rotavirus (murini)
Diluent   1	100 ml	Tampone di diluizione dei campioni, soluzione proteica tamponata NaCl; pronto per l'uso, colorazione in blu
Wash buffer	100 ml	Tampone di lavaggio, soluzione tamponata al fosfato NaCl (concentrata 10 volte); contiene 0,1% di Thimerosal
Control   +	2 ml	Controllo positivo; coltura di rotavirus inattivata, pronto per l'uso
Control   -	2 ml	Controllo negativo (tampone di diluizione dei campioni), pronto per l'uso
Conjugate   1	13 ml	Anticorpi (murini) coniugati in biotina anti-rotavirus in soluzione proteica stabilizzata; pronto per l'uso; colorazione in rosso
Conjugate   2	13 ml	Poli-coniugato streptavidina-perossidasi in soluzione proteica tamponata; pronto per l'uso; colorato in arancione
Substrate	13 ml	Perossido di idrogeno/TMB; pronto per l'uso
Stop	12 ml	Reagente di bloccaggio; acido solforico 1 N; pronto per l'uso

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS) su [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito è utilizzabile per quattro settimane se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Evitare la contaminazione microbica. Dopo la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità. La busta in alluminio deve essere aperta con le forbici, in modo tale da non rimuovere la chiusura a clip. Le strisce per microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente riposte nella busta in alluminio e conservate a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C.

Evitare l'esposizione diretta alla luce del substrato incolore, per evitare la decomposizione o la colorazione blu per auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

## 6. Reagenti necessari ma non in dotazione

### 6.1 Reagenti necessari

Per il test RIDASCREEN® Rotavirus occorrono i seguenti reagenti:

Reagenti
Acqua distillata o deionizzata

### 6.2 Necessary laboratory equipment

Per il test RIDASCREEN® Rotavirus occorre la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Provette
Pipette monouso (Codice articolo: Z0001)
Vorticatore (opzionale, vedere Punto 9.3.)
Micropipetta da 50 - 100 µl e 1 ml in volume
Cilindro graduato (1.000 ml)
Cronometro
Dispositivo di lavaggio per piastre per microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
Fotometro per piastre per microtitolazione (450 nm e filtro di riferimento 620 – 650 nm)
Carta filtrante (carta da laboratorio)

## 7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

Questo test deve essere condotto esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici. Attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso nell'esecuzione del test.

Non introdurre con la bocca campioni o reagenti mediante pipetta, evitare il contatto con la cute lesa o con le mucose. Durante la manipolazione dei campioni indossare guanti monouso e lavare le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Per maggiori informazioni consultare la Scheda di sicurezza dei materiali (MSDS) all'indirizzo [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Il kit include un controllo positivo che contiene la coltura di rotavirus inattivata. Deve essere trattato come potenzialmente infettivo, analogamente ai campioni dei pazienti, e maneggiato in conformità alle disposizioni di sicurezza nazionali vigenti.

Il tampone di lavaggio contiene 0,1 % di Thimerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le membrane mucose.

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

## 8. Raccolta e conservazione dei campioni

I campioni di feci devono essere raccolti il più presto possibile entro tre giorni dalla comparsa dei sintomi iniziali di diarrea. Fino all'uso, conservare il materiale di test a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Qualora il materiale non possa essere utilizzato per un test entro tre giorni, si raccomanda di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione. Dopo la diluizione in tampone 1:11, il campione può essere conservato a 2 e 8 °C e dovrà essere utilizzato entro tre giorni (Tabella 1).

**Tabella 1: Conservazione del campione**

Campione fecale non diluito		Campione fecale diluito
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni	≤ 3 giorni

I campioni di feci e i prelievi rettali non devono essere riposti in contenitori per il trasporto contenenti sostanze per il trasporto come conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti e detergenti, in quanto potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN® Rotavirus.

Se vengono usati prelievi rettali, assicurarsi che il volume del materiale fecale sia sufficiente (circa 100 mg) per il test.

Le indagini ambientali devono includere anche l'analisi di campioni di feci prelevati da persone che non mostrano sintomi clinici al fine di identificare i portatori asintomatici.

## 9. Esecuzione del test

### 9.1 Informazioni generali

Tutti i reagenti e la piastra di microtitolazione **Plate** devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25 °C) prima dell'uso. Le strisce per microtitolazione devono essere rimosse dalla busta in alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare con cura i reagenti immediatamente prima dell'utilizzo. Dopo l'uso, le strisce di micropozzetti (inserite in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C. Una volta usate, le strisce di micropozzetti non devono essere riutilizzate. I reagenti e le strisce per microtitolazione non devono essere utilizzati se l'imballaggio è danneggiato o i flaconi non sono ermetici.

Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione incrociata.

Il test non deve essere esposto all'irradiazione solare diretta. Si raccomanda di coprire la piastra per microtitolazione o di sigillarla con una pellicola in plastica per evitare la perdita per evaporazione.

### 9.2 Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di lavaggio **Wash buffer** con 9 parti di acqua distillata. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere precedentemente riscaldati in un bagnomaria a 37 °C per scioglierli.

### 9.3 Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta marcata 1 ml di tampone per diluizione dei campioni RIDASCREEN® **Diluent | 1**. Utilizzare una pipetta monouso (codice prodotto Z0001) per aspirare un campione di feci liquide (circa 100 µl) fino a superare di poco la seconda graduazione e aggiungerlo al tampone nella provetta per ottenere una sospensione. Per realizzare una sospensione con un campioni di feci solide, introdurre una quantità equivalente (circa 50 – 100 mg) con una spatola o un'ansa di inoculazione monouso.

Omogeneizzare la sospensione fecale mediante aspirazione ed espulsione tramite pipetta monouso oppure, in alternativa, miscelare in un vortificatore. Lasciare riposare la sospensione per un breve periodo (10 minuti) affinché le particelle di feci più grandi possano depositarsi, quindi il supernatante di sospensioni di feci purificato è pronto per essere utilizzato direttamente nel test. Se la procedura viene eseguita in un sistema ELISA automatico, il supernatante non deve contenere particelle. In questo caso, è consigliabile centrifugare il campione a 2.500 G per 5 minuti.

**Nota: I campioni di feci diluiti in **Diluent | 1** possono essere testati in tutti i dosaggi RIDASCREEN® ELISA per cui viene usato il diluente **Diluent | 1**.**

#### 9.4 Prima incubazione

Dopo aver inserito un numero sufficiente di pozzetti nel telaio di fissaggio, introdurre 100 µl di controllo positivo **Control | +**, controllo negativo **Control | -** o sospensione di feci. Quindi aggiungere 100 µl dell'anticorpo biotina-coniugato **Conjugate | 1** e miscelare (dando dei leggeri colpi sul bordo della piastra); successivamente incubare per 60 minuti a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

#### 9.5 Lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere i giusti risultati e deve pertanto essere effettuato in stretta conformità con le istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti per poi essere smaltito nel rispetto delle disposizioni locali. Quindi, tamponare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare la piastra cinque volte utilizzando 300 µl di tampone di lavaggio **Wash buffer** ogni volta. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati estroflettendoli tamponandoli dopo ciascun lavaggio su un'area di carta assorbente ancora asciutta e inutilizzata.

Se si utilizza una lavatrice per micropiastre o un sistema ELISA completamente automatico, assicurarsi che la macchina sia correttamente regolata e, se necessario, chiedere le impostazioni al produttore. I dispositivi forniti da R-Biopharm sono già programmati con le impostazioni e i protocolli di lavoro convalidati. Per evitare di bloccare gli aghi di lavaggio, introdurre solo sospensioni di feci prive di particelle (vedere Punto 9.3., Preparazione dei campioni). Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio.

#### 9.6 Seconda incubazione

Utilizzare una pipetta per introdurre 100 µl di poli-coniugato streptavidina-perossidasi **Conjugate | 2** nei campioni, quindi incubare per 30 minuti a temperatura ambiente (20 – 25 °C).

#### 9.7 Lavaggio

Lavare come descritto al Punto 9.5.

#### 9.8 Terza incubazione

Iniettare nei pozzetti 100 µl di substrato **Substrate**. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Successivamente inserire in tutti i pozzetti 50 µl di reagente bloccante **Stop** per arrestare la reazione. Dopo aver accuratamente miscelato picchiando leggermente sul lato della piastra, misurare l'estinzione a 450 nm (opzionale: 450/620 nm). Regolare il punto zero contro aria, ovvero senza la piastra per microtitolazione.

**Nota: I campioni di pazienti altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato.**

## **10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti**

Per il controllo della qualità eseguire il controllo positivo e negativo ad ogni esecuzione del test al fine di garantire la stabilità dei reagenti e la corretta esecuzione del test. Il test è eseguito correttamente se il tasso di estinzione (OD) del controllo negativo è inferiore a 0,2 a 450 nm (inferiore a 0,160 a 450/620 nm) e il valore misurazione del controllo positivo è superiore a 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valore superiore a 0,2 (0,160) per il controllo negativo può indicare un lavaggio insufficiente. La deviazione dai valori richiesti, proprio come un'opacizzazione o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti, può indicare che i reagenti sono scaduti.

Se i valori stipulati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Funzionalità dell'attrezzatura utilizzata (p.es. calibrazione)
- Procedura di esecuzione del test corretta
- Controllare visivamente che i componenti del kit non presentino contaminazione o perdite: non utilizzare una soluzione di substrato che sia diventata blu.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

## **11. Valutazione e interpretazione**

### **11.1. Calcolo del valore limite**

Per stabilire il valore limite, introdurre 0,15 unità di estinzione all'estinzione misurata per il controllo negativo.

$$\text{Valore limite} = \text{estinzione per il controllo negativo} + 0,15$$

### **11.2. Risultati del test**

Il campione è considerato positivo se il tasso di estinzione supera il valore limite calcolato di più del 10 %.

Il campione viene considerato marginale se il tasso di estinzione è compreso tra 10 % in meno e 10 % in più rispetto al valore limite. Se l'esame ripetuto con un campione di feci fresco rientra ancora nella zona grigia, il campione viene considerato negativo.

I campioni con estinzioni superiori al 10 % al di sotto del limite calcolato devono essere considerati negativi.



## 12. Limiti del metodo

Il test RIDASCREEN® Rotavirus rileva la presenza di antigeni del rotavirus nei campioni di feci. Non è possibile stabilire una relazione tra il livello di estinzione rilevato e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. I risultati ottenuti devono sempre essere interpretati tenendo conto dei segni e dei sintomi clinici.

Un risultato positivo non esclude la presenza di altri patogeni infettivi.

Un risultato negativo non esclude la possibilità di infezione da rotavirus. Un risultato simile può essere dovuto a escrezione intermittente del virus oppure è possibile che la quantità di antigene nel campione sia insufficiente. Qualora a livello anamnestico sussista il sospetto di infezione da rotavirus, l'esame deve essere ripetuto con un altro campione di feci.

Un risultato borderline può essere dovuto a distribuzione non omogenea delle tossine nel campione di feci. In questo caso, l'esame deve essere ripetuto con una seconda sospensione dallo stesso campione o in alternativa dovrà essere richiesto un altro campione di feci.

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1 Qualità del test

Il test RIDASCREEN® Rotavirus è stato convalidato a confronto con tre test Rotavirus ELISA commerciali. L'insieme dei campioni utilizzato era composto da campioni freschi di giornata di un laboratorio di routine e da campioni conservati, precedentemente congelati a - 20°C per l'esame comparativo. Tutti i test ELISA sono stati condotti con una sospensione iniziale omogeneizzata secondo le indicazioni del produttore. Un campione è stato considerato positivo o negativo in caso di corrispondenza di due dei tre test di riferimento. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 2.

**Tabella 2:** Correlazione tra il test ELISA RIDASCREEN® Rotavirus e altri tre ELISA commerciali

RIDASCREEN® Rotavirus	ELISA concorrente		Totale
	+	-	
+	22	1*	23
-	1*	112	113
Totale	23	113	136

\* Entrambi i campioni sono risultati negativi all'esame Rotavirus PCR.

Sensibilità: 95,7 %      Specificità : 99,1 %

## 13.2 Reattività incrociata

Diversi microrganismi patogeni del tratto intestinale sono stati esaminati con il test RIDASCREEN® Rotavirus ELISA e non hanno evidenziato alcuna reattività incrociata. Questi studi sono stati condotti con sospensioni batteriche non diluite che presentavano una concentrazione da 10<sup>6</sup> a 10<sup>9</sup> per ml.. I supernatanti della coltura virale, le tossine e i campioni di feci sono rispettivamente indicati. I risultati di questo studio sono riepilogati nella Tabella 3.

**Tabella 3:** Reattività incrociata con microrganismi patogeni

Organismo	Origine	Fonte	[OD 450 nm] valore medio
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Coltura	DSM 2403	0,078
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Coltura	DSM 30020	0,068
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Coltura	DSM 30016	0,078
<i>Citrobacter sp.</i>	Coltura	DSM 30047	0,055
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	DSM 30039	0,090
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	DSM 30054	0,072
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	DSM 2570	0,066
<i>Enterococcus faecium</i>	Coltura	DSM 20477	0,095
<i>E. coli</i>	Coltura	LMU Munich	0,069
<i>E. coli</i>	Coltura	LMU Munich	0,082
<i>E. coli</i>	Coltura	LMU Munich	0,083
<i>E. hermannii</i>	Coltura	DSM 4560	0,054
<i>Lactococcus lactis</i>	Coltura	DSM 20481	0,073
<i>Listeria innocua</i>	Coltura	DSM 20649	0,078
<i>Proteus mirabilis</i>	Coltura	DSM 788	0,053
<i>Proteus mirabilis</i>	Coltura	DSM 4479	0,065
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	DSM 30119	0,053
<i>Providencia stuartii</i>	Coltura	DSM 6676	0,080
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	DSM 939	0,065
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Coltura	DSM 4358	0,061
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Coltura	DSM 50124	0,082
<i>Pseudomonas putida</i>	Coltura	DSM 291	0,058
<i>Salmonella agona</i>	Coltura	LMU Munich	0,097
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Coltura	DSM 4224	0,088
<i>Salmonella infantis</i>	Coltura	LMU Munich	0,059
<i>Salmonella ohio</i>	Coltura	LMU Munich	0,061
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	DSM 554	0,052
<i>Serratia liquefaciens</i>	Coltura	DSM 4487	0,050
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	DSM 4782	0,063

<i>Shigella sonnei</i>	Coltura	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	DSM 20372	0,063
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Coltura	DSM 2134	0,078
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Coltura	DSM 20662	0,079
<i>Streptococcus uberis</i>	Coltura	DSM 20569	0,072
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Coltura	LMU Munich	0,097
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Coltura	LMU Munich	0,074
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Coltura	LMU Munich	0,084
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Coltura	LMU Munich	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Coltura	LMU Munich	0,086
<i>Candida albicans</i>	Coltura	ATCC 10231	0,082
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	DSM 9898	0,065
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	DSM 4688	0,054
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	DSM 4689	0,073
<i>Campylobacter fetus</i>	Coltura	DSM 5361	0,064
<i>Helicobacter pylori</i>	Coltura	DSM 4867	0,053
<i>Morganella morganii</i>	Coltura	DSM 6675	0,053
<i>Astrovirus</i>	Supernatante di coltura	Micromun	0,055
<i>Astrovirus</i>	Feci	TU Dresden	0,080
<i>Adenovirus</i>	Supernatante di coltura	Micromun	0,065
<i>Adenovirus</i>	Feci	TU Dresden	0,061
<i>H. pylori</i>	Inattivato Lisato di H. pylori	Kit control RIDASCREEN® H. pylori FemtoLab	0,082
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Tossoide	Kit control C. perfringens Enterotoxin A	0,058
<i>Shigatoxin STX1</i>	Tossoide	Toxin Technology	0,064
<i>Shigatoxin STX2</i>	Tossoide	Toxin Technology	0,073
<i>C. sordellii</i>	Coltura	tgcBiomics	0,060
<i>C. difficile</i>	Coltura	VPI 1640	0,060
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	Waterborne Inc.	0,052
<i>Campylobacter</i>	Feci	Routine lab	0,042
<i>Giardia lamblia</i>	Feci	TI Berlin	0,037
<i>Entamoeba histolytica</i>	Feci	TI Berlin	0,049
<i>Salmonella enteritidis</i>	Feci	Routine lab	0,066
<i>Sapovirus</i>	Feci	TU Dresden	0,062

### 13.3 Precisione

La riproducibilità del test the RIDASCREEN® Rotavirus ELISA è stata verificata su sei riferimenti che rappresentano l'intero range di misurazione da debolmente ad altamente positivo.

Per la determinazione della riproducibilità intra-analisi, sono stati esaminati 40 replicati di questi riferimenti. Il Kit 1 è stato testato con lo standard di riferimento 1 (RS 1), i kit 2 e 3 con lo standard di riferimento 2 (RS 2). Sono stati determinati i valori medi e i coefficienti di variazione (CV) per tutti e tre i lotti.

Per la riproducibilità inter-analisi, le misurazioni dei riferimenti sono state eseguite in 10 giorni lavorativi diversi con 2 serie al giorno con test doppi. Le misurazioni sono state determinate in tre lotti da tre tecnici.

La riproducibilità inter-lotto è stata determinata per due lotti (Lotti 2 e 3). I risultati di questo studio sono presentati nella Tabella 4.

**Tabella 4:** Riproducibilità e precisione del test RIDASCREEN® Rotavirus ELISA

Riferimento	Valore medio / VC	Intra-analisi			Inter-analisi			Inter-lotto
		Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Lotto kit 1	Lotto kit 2	Lotto kit 3	Kit lotti 2-3
		(RS 1)	(RS 2)	(RS 2)	(RS 1)	(RS 2)	(RS 2)	2-3
1	MV	2,279	2,116	2,300	2,206	1,902	2,035	1,968
	VC (%)	4,82 %	9,38 %	6,86 %	11,78 %	20,30 %	18,33 %	19,42 %
2	MV	1,318	1,311	1,535	1,642	1,273	1,389	1,331
	VC (%)	8,87 %	10,67 %	5,00 %	14,82 %	25,42 %	21,61 %	23,70 %
3	MV	1,265	1,184	1,517	1,483	1,117	1,219	1,168
	VC (%)	9,82 %	13,36 %	5,25 %	15,00 %	22,68 %	21,43 %	22,01 %
4	MV	0,837	0,660	0,853	1,116	0,710	0,781	0,745
	VC (%)	10,26 %	15,12 %	4,53 %	17,26 %	25,81 %	24,37 %	25,36 %
5	MV	0,658	0,544	0,670	0,738	0,548	0,607	0,578
	VC (%)	9,94 %	14,99 %	4,85 %	17,78 %	25,43 %	26,14 %	26,21 %
6	MV	0,373	0,298	0,509	0,532	0,386	0,435	0,411
	VC (%)	9,85 %	15,38 %	7,43 %	17,94 %	28,90 %	27,73 %	28,87 %

### 13.4 Sensibilità analitica

Il limite di rilevazione del test RIDASCREEN® Rotavirus ELISA è stato determinato mediante diluizione seriale di un campione di feci quantificata tramite immunoelettromicroscopia (IEM). Le misurazioni sono state eseguite in triplicato, in base a

un titolo virale di  $10,6 \times 10^7$  particelle/ml. Il limite di rilevazione è stato definito come  $6,63 \times 10^3$  particelle virali/ml di campione di feci. I risultati delle serie di titolazioni sono presentati nella Tabella 5. Si noti che il valore OD positivo nel test ELISA è causato da particelle virali intatte, ma anche da frammenti del virus che non vengono conteggiati alla IEM.

**Tabella 5:** Determinazione della sensibilità analitica di RIDASCREEN® Rotavirus ELISA

IEM	RIDASCREEN® Rotavirus	
	Valore medio [OD 450]	Risultati
$5,3 \times 10^6$	4,036	Positivo
$5,3 \times 10^5$	4,043	Positivo
$2,65 \times 10^5$	4,051	Positivo
$1,325 \times 10^5$	4,060	Positivo
$0,663 \times 10^5$	3,140	Positivo
$5,3 \times 10^4$	2,022	Positivo
$2,65 \times 10^4$	0,788	Positivo
$1,325 \times 10^4$	0,451	Positivo
$0,663 \times 10^4$	0,240	Positivo
$0,332 \times 10^4$	0,124	Negativo
$0,165 \times 10^4$	0,049	Negativo

### 13.5 Sostanze interferenti

Le sostanze include nell'elenco seguente non hanno mostrato effetti sui risultati dei test quando miscelate in campioni di feci positivi e negativi al rotavirus nelle concentrazioni descritte:










Mucine	5,0 % w/w	Diclofenac	0,00263 % v/w
Sangue umano	5,0 % v/w	Cyclamato	5,0 % v/w
Solfato di bario	5,0 % w/w	Acido stearico / acido palmitico	40 % w/w (miscela 1:1)
Loperamide	5,0 % w/w		
Peptobismol	5,0 % v/w	Metronidazolo 0,5 % soluzione	5,0 % v/w

## 14. Cronologia delle versioni


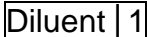
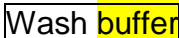


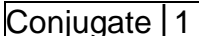
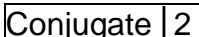
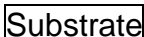

Numero della versione	Capitolo e designazione
2017-04-20	Versione precedente
2019-07-08	Revisione generale 4. Contenuto della confezione 8. Raccolta e conservazione dei campioni 9.2 Preparazione del tampone di lavaggio 9.5 Lavaggio

## 15. Descrizione simboli

### Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici del test

	Piastra da microtitolazione
	Tampone di diluizione 1
	Tampone di lavaggio
	Controllo positivo
	Controllo negativo
	Coniugati 1
	Coniugati 2
	Substrato
	Reagente bloccante

## 16. Bibliografia

1. Francki, R.I.B., Fauquet, C.M., Knudson, D.L., and Brown, F.: Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology Supplement 2. Springer Verlag, New York, pp 140-144 (1992)
2. Estes, M.K. and Cohen, J.: Rotavirus Gene Structure and Function. Microbiological Reviews 53: 410-419 (1989)
3. Bishop, R.F., Davidson, G. P., Holmes, I.H. and Ruck, B.J.: Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. Lancet 1, 149-151 (1974)
4. Kapikian, A.Z., Yolken, R.H., Greenberg, H.B., Wyatt, R.G., Kalica, A.R., Chanock, R. M. and Kim, H.W.: Gastroenteritis viruses. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections, 5th Ed., (1980) Lennette, E.H., Schmidt, N.J., Eds. Amer. Pub. Health Assoc., Washington, D.C., 927-996
5. Flewett, T.H. and Woode, G.N.: The Rotavirus. Arch. Virology 57, 1-23 (1978)
6. Steinhoff, M.C: Rotavirus: The first five years. J. Ped. 96, 611-622 (1980)
7. Blacklow, N.R. and Cukor, G.: Viral Gastroenteritis. New England Journal of Medicine 304, 397-406 (1981)
8. Wenman, W.M., Hinde, D., Feltham, S. and Gurwith, M.: Rotavirus Infection in Adults. Results of a Prospective Study. New England Journal of Medicine 301, 303-306 (1979)
9. Cubitt, W.D.: Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1, 33-38 (1982)
10. Marrie, T.J., Spencer, H.S., Faulkner, R.S., Ethier, J. and Young, C.H.: Rotavirus Infection in a Geriatric Population. Arch. Intern. Med. 142, 313-316 (1982)
11. Coulson, B.S. and Holmes, I.H.: An Improved Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates. J. Virol. Methods 8, 165-179 (1984)
12. Hung, T., Wang, Ch., Fang, Z., Chou, Z., Chang, X., Liang, X., Chen, G., Yao, H., Chao, T., Ye, W., Den, S. and Chang, W.: Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. Lancet, 1139-1142 (1984)
13. Cukor, G., Perron, D.M., Hudson, R. and Blacklow, N.R.: Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Microbiol. 19, 888-892 (1984)
14. Herrmann, J.E., Blacklow, N.R., Perron, D.M., Cukor, G., Krause, P.J., Hyams, J.S., Barrett, H.J. and Ogra, P.L.: Enzyme immunoassay with Monoclonal Antibody Enzyme Immunoassay for Detection of Rotavirus in Stool Specimens. J. Infect. Dis. 152, 830-832 (1985)
15. Yolken, R.H.: Enzyme Immunoassays for the Detection of Infectious Antigens in Body Fluids: Current Limitations and Future Prospects. Rev. Infect. Dis. 4, 35-68 (1982)

16. Eing, B.R. *et al*: Evaluation of Two Enzyme Immunoassays for Detection of Human *Rota-viruses in Fecal Specimens*. *J. Clin. Microbiology* 12/2001 p. 4532-4534