

RIDASCREEN® Adenovirus

REF C1001



1. Zweckbestimmung

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDASCREEN® Adenovirus ist ein Enzymimmunoassay zum qualitativen Nachweis von Adenoviren in humanen Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Adenoviren zeichnen sich durch einen typisch ikosaedrischen Aufbau mit Spikeartigen Strukturen an der Oberfläche aus. Es sind über 50 verschiedene Typen bekannt, die Infektionen des Auges, des Respirationstraktes oder des Intestinaltraktes verursachen können. Infektionen des Intestinaltraktes werden insbesondere durch die Typen 40/41 hervorgerufen. Jedoch können auch bei Infektionen mit anderen Typen Enteritiden als Begleitsymptome auftreten. Adenoviren sind nach Rotaviren gleichauf mit Astroviren die zweithäufigste Ursache viraler Durchfallerkrankungen bei Kindern. Aber auch Erwachsene erkranken daran. Da sich eine durch Adenoviren bedingte Gastroenteritis klinisch nicht von einer durch Rota- oder Astroviren verursachten unterscheiden lässt, sollten Patienten stets auf alle drei Erreger getestet werden. Die im RIDASCREEN® Adenovirus verwendeten monoklonalen Antikörper sind gegen das für Adenoviren spezifische Protein Hexon gerichtet und erfassen dadurch sowohl die enteralen Typen 40/41 als auch die meisten anderen Typen, die für Infektionen des Auges oder des Respirationstraktes verantwortlich sind.

3. Testprinzip

Im RIDASCREEN® Adenovirus-Test werden monoklonale Antikörper in einem Sandwichverfahren eingesetzt. An der Oberfläche der Vertiefung der Mikrotiterplatte ist ein monoklonaler Antikörper gegen das Hexon-Antigen von Adenoviren gebunden.

Eine Suspension der zu untersuchenden Stuhlprobe sowie die Kontrollen werden zusammen mit biotinylierten monoklonalen Anti-Adenovirus-Antikörpern (Konjugat 1) bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) zur Inkubation in die Vertiefung der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach einem Waschschrift wird Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat (Konjugat 2) dazu gegeben und erneut bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert. Bei Anwesenheit von Adenoviren in der Stuhlprobe bildet sich ein Sandwich-Komplex aus immobilisierten Antikörpern, den Adenovirus-Antigenen und den mit dem Biotin-Streptavidin-Poly-Peroxidase-Komplex konjugierten Antikörpern. Nicht gebundenes Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugat wird in einem weiteren Waschschrift entfernt. Nach der Zugabe von Substrat wandelt gebundenes Enzym bei positiven Proben die farblose Lösung in den Vertiefungen der Mikrotiterplatte in eine blaue Lösung um. Durch Zugabe von Stopp-Reagenz erfolgt ein Farbumschlag von blau nach gelb. Die Extinktion ist proportional zur Konzentration der in der Probe vorhandenen Adenoviren.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 96 Bestimmungen

Plate	96 Best.	Mikrotiterplatte, 12 Mikrotiterstreifen (teilbar) im Halterahmen; beschichtet mit monoklonalen Antikörpern (Maus) gegen Adenoviren
Diluent 1	100 ml	Probenverdünnungspuffer 1, Protein-gepufferte NaCl-Lösung; gebrauchsfertig; blau gefärbt
Wash buffer	100 ml	Waschpuffer, Phosphat-gepufferte NaCl-Lösung (10-fach konz.); enthält 0,1 % Thimerosal
Control +	2 ml	Positivkontrolle; inaktivierte Adenoviruskultur; gebrauchsfertig; rot-rosa gefärbt
Control -	2 ml	Negativkontrolle; negative Kontrolle (Probenverdünnungspuffer 1); gebrauchsfertig
Conjugate 1	13 ml	Biotin-konjugierte monoklonale Antikörper (Maus) gegen Adenoviren; gebrauchsfertig; grün gefärbt
Conjugate 2	13 ml	Streptavidin-Poly-Peroxidase Konjugat in stabilisierter Proteinlösung gebrauchsfertig; orange gefärbt
Substrate	13 ml	Wasserstoffperoxid/TMB; gebrauchsfertig
Stop	12 ml	Stopp-Reagenz; 1 N Schwefelsäure; gebrauchsfertig

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Alle Reagenzien sind bei 2 - 8 °C zu lagern und bis zu dem auf den Etiketten aufgedruckten Verfalldatum verwendungsfähig. Der verdünnte Waschpuffer ist bei einer Lagerung von 2 - 8 °C 4 Wochen haltbar. Mikrobielle Kontamination ist zu vermeiden. Nach Erreichen des Verfalldatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.

Der Alu-Beutel ist mit einer Schere so zu öffnen, dass der Klippverschluss nicht abgetrennt wird. Nicht benötigte Mikrotiterstreifen sind im verschlossenen Alu-Beutel sofort wieder bei 2 - 8 °C zu lagern.

Eine direkte Lichteinwirkung auf das farblose Substrat ist zu vermeiden, um einer Zersetzung bzw. Blaufärbung durch Autooxidation vorzubeugen. Bei aufgetretener Blaufärbung kann das Substrat nicht mehr verwendet werden.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

6.1 Benötigte Reagenzien

Folgende Reagenzien werden für die Durchführung des RIDASCREEN® Adenovirus Tests benötigt:

Reagenzien
Destilliertes oder deionisiertes Wasser

6.2 Benötigtes Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Durchführung des RIDASCREEN® Adenovirus Tests benötigt:

Zubehör
Probenröhrchen
Einwegpipetten (Art. Nr.:Z0001)
Vortex Mixer (optional, siehe 9.3.)
Mikropipette für 50 - 100 µl und 1 ml Volumina
Messzylinder (1000 ml)
Stoppuhr
Waschgerät für Mikrotiterplatten oder Mehrkanalpipette (300 µl)
Photometer für Mikrotiterplatten (450 nm, Referenzfilter 620 - 650 nm)
Filterpapier (Labortücher)

7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit Proben persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf www.r-biopharm.com.

Die im Kit befindliche Positivkontrolle enthält inaktivierte Adenoviruskultur. Sie sollte, ebenso wie die Patientenproben, als potentiell infektiös gemäß den nationalen Sicherheitsbestimmungen behandelt werden.

Der Waschpuffer enthält als Konservierungsmittel 0,1 % Thimerosal. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben müssen so bald als möglich nach Auftreten von Durchfallssymptomen innerhalb von 3 Tagen gewonnen werden. Das Untersuchungsmaterial ist bis zur Verarbeitung bei 2 - 8 °C zu lagern. Kann das Material nicht innerhalb von 3 Tagen im Test eingesetzt werden, wird eine Lagerung bei -20 °C oder kälter empfohlen. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden. Eine im Probenverdünnungspuffer 1:11 verdünnte Stuhlprobe ist bei 2 - 8 °C bis zu 7 Tagen haltbar (Tab. 1).

Tab. 1: Probenlagerung

Unverdünnte Stuhlprobe		Verdünnte Stuhlprobe
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 Tage	> 3 Tage	≤ 7 Tage

Stuhlproben oder Rektalabstriche sollten nicht in Transportbehältern gesammelt werden, die Transportmedien mit Konservierungsstoffen, tierischen Seren, Metall-Ionen, oxidierenden Agenzien oder Detergenzien enthalten, da Interferenzen mit dem RIDASCREEN® Adenovirus-Test auftreten können.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 100 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

Bei Umgebungsuntersuchungen sollten auch Stuhlproben von klinisch unauffälligen Kontaktpersonen genommen werden, um asymptomatische Träger zu identifizieren.

9. Testdurchführung

9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind alle Reagenzien und die Mikrotiterplatte Plate auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Mikrotiterstreifen sind erst nach Erreichen der Raumtemperatur dem Alu-Beutel zu entnehmen. Die Reagenzien sind unmittelbar vor der Verwendung gut zu mischen. Nach dem Gebrauch sind die Mikrotiterstreifen (im verschlossenen Beutel) und die Reagenzien wieder bei 2 - 8 °C zu lagern. Einmal benutzte Mikrotiterstreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Reagenzien und Mikrotiterstreifen dürfen nicht verwendet werden, wenn die Verpackung beschädigt ist oder die Gefäße undicht sind.

Ein direkter Kontakt von Proben mit den Kitkomponenten ist zur Vermeidung von Kreuzkontamination zu vermeiden.

Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung sollte vermieden werden. Es wird empfohlen, die Mikrotiterplatte zur Vermeidung von Verdunstungsverlusten abzudecken oder abzukleben.

9.2 Herstellung des Waschpuffers

1 Teil des Waschpuffer-Konzentrates **Wash buffer** wird mit 9 Teilen destilliertem Wasser gemischt. Eventuell im Konzentrat vorhandene Kristalle sind vorher durch Erwärmen (Wasserbad bei 37 °C) zu lösen.

9.3 Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml RIDASCREEN® Probenverdünnungspuffer **Diluent | 1** vorgelegt. Flüssiger Stuhl wird in eine Einwegpipette (Art. Nr. Z0001) bis kurz oberhalb der zweiten Markierung aufgesaugt (ca. 100 µl) und im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei festem Stuhl wird eine äquivalente Menge Stuhl (ca. 50-100 mg) mit einem Spatel oder einer Einwegimpföse entnommen und suspendiert.

Das Homogenisieren der Stuhlsuspension erfolgt entweder durch Aufsaugen und Ausstoßen mit der Einwegpipette oder alternativ durch Mischen auf einem Vortex Mixer. Nach kurzem Stehenlassen (10 min) zur Sedimentation grober Stuhlpartikel kann der auf diese Weise geklärte Überstand der Stuhlsuspension direkt im Test eingesetzt werden. Erfolgt die Testdurchführung in einem ELISA-Automaten muss dieser Überstand partikelfrei sein. In diesem Fall empfiehlt sich eine Zentrifugation bei 2500 g für 5 Minuten.

Hinweis: Die im **Diluent | 1 verdünnten Stuhlproben können auch in allen anderen RIDASCREEN® ELISA eingesetzt werden die ebenfalls das **Diluent | 1** verwenden.**

9.4 Erste Inkubation

Nach dem Einstecken einer ausreichenden Zahl von Kavitäten in den Halterahmen erfolgt die Zugabe von 100 µl der Positivkontrolle **Control | +**, der Negativkontrolle **Control | -** oder der Stuhlprobensuspension in die Vertiefungen. Anschließend werden 100 µl des Biotin-konjugierten Antikörpers **Conjugate | 1** zugegeben und nach Durchmischung (leichtes Tippen an den Plattenrand) für 60 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) inkubiert.

9.5 Waschen

Sorgfältiges Waschen ist wichtig zur Erzielung korrekter Ergebnisse und sollte daher strikt nach Anleitung erfolgen. Das Inkubat in den Kavitäten sollte zunächst in einen Abfallbehälter entleert und gemäß den behördlichen Vorschriften entsorgt werden. Danach wird die Platte auf saugfähigem Papier ausgeklopft, um die Restfeuchtigkeit zu entfernen. Anschließend wird 5-Mal mit jeweils 300 µl Waschpuffer **Wash buffer**

gewaschen. Dabei ist nach jedem Waschgang für eine komplette Entleerung durch Ausklopfen auf einer noch trockenen und unbenutzten Stelle des Papiers zu sorgen. Bei der Verwendung von Waschautomaten oder ELISA-Vollautomaten ist die korrekte Einstellung des Gerätes zu beachten bzw. beim Hersteller zu erfragen. Geräte, die R-Biopharm liefert, sind bereits mit validierten Einstellungen und Arbeitsprotokollen programmiert. Um Verstopfungen von Waschnadeln zu vermeiden sollten gemäß der Probenvorbereitung (Punkt 9.3.) nur partikelfreie Stuhlsuspensionen eingesetzt werden. Bei den Waschschrritten muss auf ein komplettes Absaugen der Flüssigkeit geachtet werden.

9.6 Zweite Inkubation

100 µl des Streptavidin-Poly-Peroxidase-Konjugates **Conjugate | 2** werden in die Kavitäten pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (20-25 °C) inkubiert.

9.7 Waschen

Waschen gemäß Punkt 9.5.

9.8 Dritte Inkubation

Zugabe von 100 µl Substrat **Substrate** in alle Vertiefungen. Anschließend wird die Platte für 15 Minuten bei Raumtemperatur (20 - 25 °C) im Dunkeln inkubiert. Danach wird durch Zugabe von 50 µl Stopp-Reagenz **Stop** in alle Vertiefungen die Reaktion gestoppt. Nach vorsichtigem Mischen (leichtes Tippen an den Plattenrand) wird die Extinktion bei 450 nm gemessen (optional: 450/620 nm).

Hinweis: Hoch positive Patientenproben können schwärzliche Präzipitate des Substrates verursachen.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Für die Qualitätskontrolle sind bei jeder Testdurchführung Positiv- und Negativkontrolle mitzuführen, um Reagenzienstabilität und korrekte Testdurchführung sicherzustellen. Der Test ist korrekt verlaufen, wenn der Extinktionswert (OD) der Negativkontrolle bei 450 nm kleiner 0,2 (kleiner 0,160 bei 450/620 nm) und der gemessene Wert der Positivkontrolle bei 450 nm oder bei 450/620 nm größer 0,8 ist. Ist der Wert der Negativkontrolle größer 0,2 (0,160) kann dies ein Zeichen für ungenügendes Waschen sein. Eine Abweichung von den geforderten Werten kann ebenso wie eine Trübung oder Blaufärbung des farblosen Substrates vor Zugabe in die Kavitäten ein Hinweis auf Reagenzienverfall sein.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte (z. B. Kalibrierung)
- Korrekte Testdurchführung
- Visuelle Kontrolle der Kitkomponenten auf Kontamination oder Undichtigkeit; eine bläulich verfärbte Substratlösung darf nicht mehr verwendet werden.

Sind bei Wiederholung die Bedingungen wiederum nicht erfüllt, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

11. Auswertung und Interpretation

11.1. Berechnung des Grenzwertes

Zur Festlegung des Grenzwertes werden zu der gemessenen Extinktion der Negativkontrolle 0,15 Extinktionseinheiten hinzuaddiert.

$$\text{Cut-off} = \text{Extinktionswert der Negativkontrolle} + 0,15$$

11.2. Testergebnis

Als positiv werden solche Proben beurteilt, deren Extinktionswert mehr als 10 % über dem errechneten Grenzwert liegt.

Als grenzwertig und zu wiederholen werden solche Proben bezeichnet, deren Extinktionswert im Bereich von 10 % oberhalb und unterhalb des Grenzwertes liegt. Fällt eine Wiederholungsuntersuchung mit einer frischen Stuhlprobe wieder in den Graubereich, so ist die Probe als negativ zu beurteilen.

Proben, die mehr als 10 % unter dem errechneten Grenzwert liegen, sind als negativ zu bewerten.

12. Grenzen der Methode

Der RIDASCREEN® Adenovirus Test weist Antigen von *Adenoviren* in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Höhe eines ermittelten Extinktionswertes und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem klinischen Bild zu interpretieren.

Ein positives Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger nicht aus.

Ein negatives Ergebnis schließt eine mögliche *Adenovirus*-Infektion nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung des Virus oder zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit Adenoviren, sollte eine weitere Stuhlprobe untersucht werden.

Ein grenzwertiges Ergebnis kann durch eine inhomogene Verteilung des Virus in der Stuhlprobe verursacht werden. Deshalb sollte in einem solchen Fall eine zweite Suspension aus der gleichen Probe untersucht werden oder eine weitere Stuhlprobe zur Untersuchung angefordert werden.

13. Leistungsmerkmale

13.1 Testqualität

Der RIDASCREEN® Adenovirus wurde im Vergleich mit drei kommerziellen Adenovirus ELISA validiert. Das verwendete Probenkollektiv war zusammengestellt aus tagesfrischen Proben eines Routinelabors und aus asservierten Proben, die zuvor bei -20 °C für die Vergleichs-untersuchung eingefroren waren. Aus einer homogenen Ausgangssuspension wurde alle ELISA nach Herstellervorschrift durchgeführt. Als positiv oder negativ galt eine Probe, wenn zwei der drei Referenzteste übereinstimmten. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 2 zusammengefasst.

Tab. 2: Korrelation des RIDASCREEN® Adenovirus ELISA zu 3 weiteren kommerziellen ELISA

RIDASCREEN® Adenovirus	Mitbewerber-ELISA		Total
	+	-	
+	21	0	21
-	0	115	115
Total	21	115	136

Sensitivität : 100 % Spezifität : 100 %

13.2 Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDASCREEN® Adenovirus-ELISA untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen, die eine Konzentration von 10^6 bis 10^9 Organismen pro ml aufwiesen. Viruskulturüberstände und Toxine sowie Stuhlproben sind entsprechend deklariert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgelistet.

Tab. 3: Kreuzreaktionen mit pathogenen Mikroorganismen

Testkeim	Herkunft	Quelle	[OD 450 nm] Mittelwert
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Kultur	DSM 2403	0,063
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Kultur	DSM 30020	0,091
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Kultur	DSM 30016	0,074
<i>Astrovirus</i>	Kultur	Micromun	0,052
<i>Astrovirus</i>	Stuhl	TU Dresden	0,074
<i>C. difficile</i>	Kultur	VPI 1640	0,052
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toxoid	Kit control C. perfringens Enterotoxin A	0,057
<i>C. sordellii</i>	Kultur	tgcBiomics	0,052
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultur	DSM 5361	0,060
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	DSM 4688	0,050
<i>Campylobacter</i>	Stuhl	Routinelabor	0,037
<i>Candida albicans</i>	Kultur	ATCC 10231	0,079
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	DSM 30039	0,094
<i>Citrobacter spp.</i>	Kultur	DSM 30047	0,070
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	Waterborne Inc.	0,051
<i>E. coli</i>	Kultur	LMU München	0,078
<i>E. coli</i>	Kultur	LMU München	0,074
<i>E. coli</i>	Kultur	LMU München	0,062
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Kultur	LMU München	0,079
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Kultur	LMU München	0,073
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Kultur	LMU München	0,096
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Kultur	LMU München	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Kultur	LMU München	0,078
<i>E. hermannii</i>	Kultur	DSM 4560	0,049
<i>Entamoeba histolytica</i>	Stuhl	TI Berlin	0,043
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kultur	DSM 30054	0,071
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	DSM 2570	0,078
<i>Enterococcus faecium</i>	Kultur	DSM 20477	0,090
<i>Giardia lamblia</i>	Stuhl	TI Berlin	0,039

<i>H. pylori</i>	Inaktiviertes H. pylori Lysat	Kit control RIDASCREEN FemtoLab H. pylori	0,071
<i>Helicobacter pylori</i>	Kultur	DSM 4867	0,051
<i>Lactococcus lactis</i>	Kultur	DSM 20481	0,070
<i>Listeria innocua</i>	Kultur	DSM 20649	0,060
<i>Morganella morganii</i>	Kultur	DSM 6675	0,054
<i>Proteus mirabilis</i>	Kultur	DSM 788	0,050
<i>Proteus mirabilis</i>	Kultur	DSM 4479	0,052
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	DSM 30119	0,052
<i>Providencia stuartii</i>	Kultur	DSM 6676	0,073
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	DSM 939	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Kultur	DSM 4358	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Kultur	DSM 50124	0,069
<i>Pseudomonas putida</i>	Kultur	DSM 291	0,056
<i>Rotavirus</i>	Kultur	Microbix	0,059
<i>Rotavirus</i>	Stuhl	TU Dresden	0,059
<i>Salmonella agona</i>	Kultur	LMU München	0,052
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Kultur	DSM 4224	0,053
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	DSM 9898	0,065
<i>Salmonella enteritidis</i>	Stuhl	Routinelabor	0,065
<i>Salmonella infantis</i>	Kultur	LMU München	0,053
<i>Salmonella ohio</i>	Kultur	LMU München	0,053
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	DSM 554	0,050
<i>Sapovirus</i>	Stuhl	TU Dresden	0,066
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultur	DSM 4487	0,039
<i>Shigatoxin STX1</i>	Toxoid	Toxin Technology	0,054
<i>Shigatoxin STX2</i>	Toxoid	Toxin Technology	0,054
<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	DSM 4782	0,040
<i>Shigella sonnei</i>	Kultur	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	DSM 20372	0,064
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Kultur	DSM 2134	0,090
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Kultur	DSM 20662	0,074
<i>Streptococcus uberis</i>	Kultur	DSM 20569	0,071

13.3 Präzision

Die Reproduzierbarkeit des RIDASCREEN® Adenovirus ELISA wurde mit sechs Referenzen, die den gesamten Messbereich von schwach bis hoch positiv abdecken, durchgeführt.

Zur Bestimmung der Intra-Assay Reproduzierbarkeit wurden 40 Replikate dieser Referenzen gemessen. Die Mittelwerte und die Variationskoeffizienten (VK) wurden für 3 Lots ermittelt.

Für die Inter-Assay Reproduzierbarkeit wurden die Referenzen an 10 verschiedenen Arbeitstagen mit 2 Läufen am Tag in Duplikaten gemessen. Die Messungen wurden mit 3 Lots und von 3 Technikern durchgeführt.

Die Inter-Lot Reproduzierbarkeit wurde über alle 3 Lots ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt.

Tab. 4: Ergebnisse der Reproduzierbarkeit/Präzision des RIDASCREEN® Adenovirus ELISA

Referenz	Mittelwert / VK(%)	Intra-assay			Inter-assay			Inter-lot
		Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1	Kit Lot 2	Kit Lot 3	Kit Lot 1-3
1	MW	2,236	2,732	3,170	2,363	2,199	2,408	2,323
	VK (%)	5,11 %	6,67 %	6,08 %	15,39 %	20,81 %	19,91 %	18,95 %
2	MW	1,359	1,590	1,975	1,411	1,368	1,559	1,446
	VK (%)	5,16 %	4,03 %	9,64 %	14,28 %	21,66 %	18,81 %	19,35 %
3	MW	1,244	1,222	1,321	1,096	1,162	1,261	1,173
	VK (%)	8,07 %	6,14 %	8,16 %	13,66 %	17,75 %	18,93 %	18,23 %
4	MW	0,813	0,899	1,014	0,794	0,822	0,862	0,826
	VK (%)	7,75 %	7,81 %	15,22 %	16,20 %	24,41 %	18,37 %	20,03 %
5	MW	0,597	0,622	0,800	0,570	0,587	0,635	0,597
	VK (%)	7,88 %	5,78 %	11,73 %	16,92 %	23,77 %	16,84 %	19,79 %
6	MW	0,368	0,394	0,588	0,407	0,434	0,462	0,434
	VK (%)	8,27 %	6,63 %	19,65 %	24,65 %	24,35 %	17,00 %	22,43 %

13.4 Analytische Sensitivität

Die Nachweisgrenze des RIDASCREEN® Adenovirus ELISA wurde ermittelt aus einer Verdünnungsserie einer mittels Immunelektronenmikroskopie (IEM) quantifizierten Stuhlprobe. Die Messungen erfolgten in Triplikaten ausgehend von einem Virustiter von $1,3 \times 10^7$ Partikel/ml. Die Nachweisgrenze wurde mit $3,25 \times 10^2$ Viruspartikel/ml Stuhlprobe festgelegt. Die Titrationsreihe ist in Tabelle 5 dargestellt. Es ist zu beachten, dass der positive OD-Wert im ELISA sowohl durch intakte Viruspartikel, aber auch Fragmente des Virus verursacht wird, die in der IEM nicht mitgezählt werden.

Tab. 5: Bestimmung der analytischen Sensitivität des RIDASCREEN® Adenovirus ELISA

IEM Viruspartikel / ml	RIDASCREEN® Adenovirus	
	Mittelwert [OD 450]	Ergebnis
$6,5 \times 10^5$	1,784	positiv
$6,5 \times 10^4$	3,993	positiv
$3,25 \times 10^4$	4,030	positiv
$1,63 \times 10^4$	4,032	positiv
$8,2 \times 10^3$	4,135	positiv
$6,5 \times 10^3$	4,245	positiv
$3,25 \times 10^3$	3,753	positiv
$1,63 \times 10^3$	2,858	positiv
$8,2 \times 10^2$	1,718	positiv
$6,5 \times 10^2$	1,126	positiv
$3,25 \times 10^2$	0,305	positiv
$1,63 \times 10^2$	0,054	negativ

13.5 Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in Adenovirus-positive und Adenovirus-negative Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden:










Mucin	5,0 % w/w	Diclofenac	0,00263 % v/w
Humanblut	5,0 % v/w	Cyclamate	5,0 % v/w
Bariumsulfat	5,0 % w/w	Stearinsäure/ Palmitinsäure	40 % w/w (1:1)
Loperamid	5,0 % w/w		
Pepto-Bismol	5,0 % v/w	Metronidazol 0,5 %-ige Lösung	5,0 % v/w

14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2017-04-20	Vorversion
2019-07-09	Generelle Überarbeitung 4. Packungsinhalt 8. Sammlung und Lagerung der Proben 9.2 Herstellung des Waschpuffers 9.5 Waschen 9.8 Dritte Inkubation

15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

Testspezifische Symbole

Plate	Microtiterplatte
Diluent 1	Probenverdünnungspuffer
Wash buffer	Waschpuffer
Control +	Positivkontrolle
Control -	Negativkontrolle
Conjugate 1	Konjugat 1
Conjugate 2	Konjugat 2
Substrate	Substrat
Stop	Stopp-Reagenz

16. Literatur

1. Horwitz, M.S.: Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, 477-495.
2. Wigand, R. and Th. Adrian: Die Diagnostik von Adenovirus-Infektionen. Internist 26, 109-112 (1985).
3. Wigand, R.: Klinische Relevanz von Adenovirusinfektionen. Laboratoriumsblätter 30, 118 -123 (1980).
4. Brandt, C.D., H.W.Kim, A.J. Vargosdo, B.C. Jeffries, J.O. Arrobio, B.Rindge, R.H. Parrot and R.M. Chanock: Infections in 18.000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. Am. J. Epidemiol. 90, 484-500 (1969).
5. Mallet, R., M. Riberre, F. Bonnenfant, B. Labrune and L. Reyrole: Les pneumopathies graves a adeno-virus. Arch. Fr. Pediatr. 23, 1057-1073 (1966).
6. Kemp, M.C., J.C. Hierholzer, C.P. Cabradilla and J.F. Obijesti: The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period. J. Infect. Dis. 148, 24-33 (1983).
7. Foy, H.M., M.K. Cooney and J.B. Hatlen: Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittend chlorination of a swimming pool. Arch. Environ. Health 17, 795-802 (1968).
8. De Jong, P.J., G. Valderrama, I. Spigland and M.S. Horwitz: Adenovirus isolates from the urines of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Lancet 1, 1293-1296 (1983).
9. Takiff, H.F., S.E. Straus and C.F. Garon: Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteric adenoviruses in 293 cells. Lancet 2, 832-834 (1981).

10. Herrmann, J.E., D.M. Perron-Henry, D. Stobbs-Walro and N.R. Blacklow: Preparation and characterization of monoclonal antibodies to enteric adenovirus types 40 and 41. *Arch. Virology* 94, 259-265 (1987).
11. Uhnoo, I., G. Wadell, L. Svensson and M.E. Johansson: Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J. Clin. Microbiol.* 20, 365-372 (1984).
12. Kidd, A.H., E.H. Harley and M.J. Erasmus: Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 22, 934-939 (1985).
13. Cukor G. and N.R. Blacklow: Human viral gastroenteritis. *Microbiological Reviews* 48, 157 -179 (1984).
14. Mogabgab, W.J.: Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959-1966. *Am. Rev. Respir. Dis.* 97, (345 - 358) (1968).
15. Richmond, S.J., E.O. Caul, S.M. Dunn, C.R. Ashley, S.K.R. Clarcken: An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. *Lancet* 1, 1178-1180 (1979).
16. Chiba, S., S. Nakata, I. Nakamura, K. Tanigudi, S. Urasawa, K. Fujinaga and T. Nakao: Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 adenovirus. *Lancet* 2, 954-957 (1983).
17. E.H. Lennette and N.J. Schmidt: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, Fifth edition, 1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D. C., 241 - 242, 229-255.
18. Cepko, C.L., C.A. Whetstone and P.A. Sharp: Adenovirus hexon monoclonal antibody that is group specific and potentially useful as a diagnostic reagent. *J. Clin. Microbiol.* 17, 360-364 (1983).