

RIDA[®]QUICK Rotavirus

N° art. : N0903



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Allemagne
Tél. : +49 (0) 61 51 81 02-0 / Télécopie : +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Domaine d'utilisation

Pour le diagnostic *in vitro*. Le RIDA®QUICK Rotavirus est un test rapide immunochromatographique pour caractériser qualitativement le rotavirus dans les échantillons de selles.

2. Résumé et explication du test

Les **rotavirus** sont les agents pathogènes les plus importants d'une gastro-entérite non bactérienne sur les enfants de 6 mois à 3 ans. Mais ils sont également caractérisés sur des enfants plus âgés et des adultes en tant que cause de l'infection. Dans les groupes à risque, donc pour les enfants et les patients âgés ou immuno-supprimés, ils peuvent entraîner la mort. Les infections par rotavirus surviennent plus souvent au cours des mois d'hiver. Des endémies et des épidémies avec un millier de personnes malades ont été également décrites. Pour les enfants hospitalisés avec des entérites aiguës, jusqu'à 50 % des échantillons examinés sont positifs au rotavirus. Les rotavirus transmis de manière orale et fécale sont éliminés en grande quantité dans l'intestin ; les infections nosocomiales transmises par des rotavirus sont ainsi particulièrement redoutées dans les unités pédiatriques et les cliniques pédiatriques et leur gestion est difficile. Une caractérisation précoce et plus fiable pour détecter les rotavirus et pour éviter d'autres infections est donc très importante.

3. Principe du test

Le présent test rapide est un test à débit latéral immunochromatographique à un niveau, dans lequel les anticorps spécifiques dirigés contre le rotavirus sont couplés à des particules rouges de latex. D'autres anticorps spécifiques contre l'agent pathogène sont liés de manière fixe à la membrane. Dans un premier temps, l'échantillon de selles est mis en suspension dans le tampon d'extraction puis est mis en sédimentation. Un aliquote du liquide clair du dessus du prélèvement est versé sur les bandes de test, le prélèvement passant à travers la membrane avec les particules colorées de latex, sur lesquelles – dans un cas positif - l'antigène présent se lit, et se liant à la bande collectrice spécifique.

4. Contenu de l'emballage

Les réactifs d'un emballage suffisent à 20 déterminations.

Cassette	20 déterm.	20 cassettes de test sous emballage individuel
Diluent	26 ml	Tampon d'extraction, prêt à l'emploi : contient 0,1 % d'azide de sodium
Pipet	25 pcs	Sachet avec 25 pipettes à usage unique

5. Les réactifs et leur stockage

Le paquet peut être entreposé à 2 – 30 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette. Lorsque la date de péremption est atteinte, aucune garantie de qualité ne peut plus être acceptée. L'utilisation possible des cassettes ne peut plus non plus être garantie lorsque l'emballage individuel des cassettes est altéré.

6. Réactifs supplémentaires nécessaires – Accessoires requis

- Tubes à essai pour suspension de selles
- Mélangeur Vortex (en option)
- Micropipette (200 µl – 1000 µl)
- Poubelle avec une solution d'hypochlorite au sodium à 0,5 %

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test ne doit être effectué que par un personnel de laboratoire formé. Les directives concernant le travail dans des laboratoires médicaux doivent être respectées. La notice d'utilisation de réalisation du test doit être respectée rigoureusement.

Le tampon de dilution des échantillons contient de l'azide de sodium comme agent conservateur. Tout contact avec la peau ou les muqueuses doit être évité.

Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs avec la bouche, éviter tout contact sur des lésions de la peau ou sur des muqueuses. Au cours du maniement avec les échantillons, porter des gants à usage unique et à l'issue du test, se laver les mains. Ne pas fumer, manger ou boire dans les locaux dans lesquels les échantillons sont manipulés.

Tous les réactifs et les matériaux, pouvant entrer en contact avec des échantillons potentiellement infectieux, doivent être traités comme ces derniers avec des désinfectants adéquats (par ex. hypochlorite de sodium) ou être passés à l'autoclave au minimum pendant une heure à 121 °C.

8. Accumulation et stockage des échantillons

Les échantillons de selles doivent être collectés dans des récipients propres sans un quelconque additif et doivent être stockés à 2 – 8 °C avant le début du test. En cas de stockage de plus de 3 jours, l'échantillon doit être surgelé à –20 °C. Dans ce cas, l'échantillon est entièrement décongelé avant le début du test et est amené à température ambiante. Il faut éviter de congeler et de décongeler plusieurs fois l'échantillon.

Lorsqu'il est nécessaire d'utiliser des frottis rectaux, il faut veiller à disposer d'une quantité nécessaire de selles pour effectuer le test (env. 50 mg).

9. Réalisation du test

9.1. Généralités

Avant d'utiliser le test, les échantillons, le tampon d'extraction et les cassettes de test doivent être amenés à température ambiante (20 – 25 °C). Les cassettes de test doivent être retirées juste avant être d'utilisée de leur emballage en déchirant ce dernier. Les cassettes utilisées ne doivent pas être réutilisées. Tout rayonnement direct du soleil au cours de la réalisation du test doit être évité.

Le réactif excédentaire ne doit pas être reversé dans le récipient puisque cela pourrait entraîner une contamination.

9.2. Préparation des échantillons

On verse dans un tube à essai marqué 1 ml de tampon d'extraction **Diluent**. Dans le cas d'un échantillon de selles **liquides**, 100 µl sont mis en suspension avec la pipette à usage unique **Pipet** dans le tampon préparé (s'arrêter juste au-dessus du deuxième gonflement). En cas d'échantillons de selles **solides**, 50 mg sont mis en suspension dans le tampon. L'échantillon doit ensuite être bien homogénéisé. Il est nécessaire pour ce faire d'aspirer plusieurs fois et d'expulser la suspension avec la pipette à usage unique **Pipet** ou de la mélanger avec un mélangeur Vortex. La suspension homogène doit ensuite être mise en sédimentation pendant **3 minutes** au minimum jusqu'à ce qu'un liquide clair se forme au-dessus.

9.3. Test du prélèvement

La cassette de test retirée de l'emballage **Cassette** est posée sur une surface plane. 200 µl du liquide clair du dessus de la suspension de selles sont ensuite pipetés au moyen de la micropipette ou 4 gouttes sont pipetées avec la pipette à usage unique **Pipet** dans l'ouverture ronde de la cassette de test. Le liquide doit s'écouler dans problème à travers la membrane. Les particules éventuellement pipetées simultanément et pouvant entraver ce passage doivent être retirées au préalable. Au bout de **5 minutes**, le résultat du test peut être lu.

10. Contrôle de qualité – Signes d'une dénaturation du réactif

Ce test ne peut être exploité que lorsque la cassette de test est intacte **avant** d'être pipetée dans la suspension réalisée du prélèvement et lorsqu'elle ne présente aucune altération de couleur ou aucune bande de couleur. De plus, **à l'issue** de l'incubation test, la bande de contrôle **bleue** doit être au minimum visible. Si celle-ci n'apparaît pas, il convient de contrôler les éléments suivants avant de renouveler le test :

- Conservation des cassettes de test et du tampon d'extraction utilisé
- Réalisation correcte du test
- Contamination du tampon d'extraction

Lors du renouvellement du test avec une nouvelle cassette de test, si la bande de contrôle n'est toujours pas visible, il faut vous adresser au fabricant ou à votre distributeur local R-Biopharm.

11. Analyse et interprétation

Au maximum deux bandes peuvent apparaître, en étant aperçues de l'endroit de prélèvement de l'échantillon et dans l'ordre suivant : une bande de réaction rouge et une bande de contrôle bleue. **Si la bande de contrôle bleue manque, le test ne peut pas être analysé et n'est plus valable!**

Les interprétations suivantes sont possibles :

- **Rotavirus positif** : les bandes **rouge** et **bleue** sont visibles.
- **Rotavirus négatif** : seule la bande **bleue** est visible.
- **Non valable** : aucune bande n'est visible ou une autre constellation que celle décrite ci-dessus et d'autres altérations de couleurs des bandes sont présentes. De plus, les colorations des bandes, survenant au bout de 10 minutes ou ultérieurement, n'influent pas sur le diagnostic et ne doivent pas être analysées.

12. Limites de la méthode

Le RIDA®QUICK Rotavirus caractérise des antigènes de rotavirus dans les échantillons de selles. Il n'est pas possible d'en déduire un rapport entre l'intensité des bandes spécifiques visibles et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés en liaison avec le tableau clinique.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes infectieux.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une éventuelle infection due à un rotavirus. Il peut être causé par l'élimination intermittente de l'agent pathogène ou par une quantité trop faible d'antigène dans l'échantillon. Si, sur le plan de l'anamnèse, une infection avec l'agent pathogène recherché est soupçonnée avec raison, un autre prélèvement de selles du patient doit être examiné.

Un excédent de prélèvement de selles peut entraîner des bandes de couleur marron à la place des bandes colorées spécifiquement. Ces bandes marrons n'influent pas sur le diagnostic. Dans de tels cas, un autre test est nécessaire en utilisant une quantité de selles plus faible ou une nouvelle dilution de la suspension déjà réalisée (liquide clair au-dessus après la sédimentation) afin de déterminer si l'agent pathogène recherché se trouve vraiment dans le prélèvement et a été recouvert par une quantité trop élevée de matrice utilisée de selles.

13. Caractéristiques

La sensibilité et la spécificité du présent test ont été testées au moyen d'échantillons cliniques avec une comparaison avec un test Elisa en vente dans le commerce. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Rotavirus		RIDA®QUICK	
		+	-
Elisa	+	105	0
	-	1	95

Sensitivité:	100 %
Spécificité:	99 %
Valeur de prévision pos.:	99,1 %
Valeur de prévision nég.:	100 %

De plus, le test rapide RIDA®QUICK Rotavirus a été comparé au cours d'une étude rétrospective avec un autre test rapide immunochromatographique commercialisé aux méthodes PCR. Les échantillons analysés provenaient d'une étude de plusieurs centres avec des enfants âgés de moins de 4 ans, qui avaient été hospitalisés ou soignés en ambulatoire pour des symptômes de gastro-entérite.

Les résultats sont résumés dans le tableau 2.

		RIDA®QUICK Rotavirus		Coris Bioconcept Rota-Stick	
		+	-	+	-
PCR	+	46	0	45	1
	-	3	51	1	53
Sensitivity		100 %		97,8 %	
Specificity		94,4 %		98,1 %	
PPV		93,9 %		97,8 %	
NPV		100 %		98,1 %	
Accuracy		97,0 %		98,0 %	

Bibliographie

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. Microb. 19, 888-892 (1984)