

RIDA[®] QUICK
Rotavirus/Adenovirus Combi

Art. No.: N1003



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



1. Anwendungsbereich

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA®QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi Test ist ein immun-chromatografischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Rotaviren und / oder Adenoviren in Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Adenoviren wurden 1953 von Rowe und Mitarbeitern in adenoidem Gewebe entdeckt. Ihre ätiologische Bedeutung bei akuten respiratorischen Erkrankungen wurde dann schnell erkannt. Adenoviren können akute Pharyngitiden, Pharyngokonjunktivalfieber, Bronchitiden und Pneumonien verursachen. Bei Kindern unter 5 Jahren werden etwa 5 % der akuten respiratorischen Erkrankungen auf Adenoviren zurückgeführt. Etwa 10 % der Pneumonien im Kindesalter werden durch Adenoviren verursacht. Die Bedeutung von Adenoviren bei gastrointestinalen Erkrankungen war lange zweifelhaft. Inzwischen hat man jedoch festgestellt, dass einzelne Adenovirus-Typen, die in Zellkulturen nur schwer angezüchtet werden können, gastrointestinale Erkrankungen verursachen. Bei Kindern mit akuten Gastroenteritiden wurden Adenoviren in 4 - 14 % der untersuchten Stuhlproben nachgewiesen. Sie sind nach den Rotaviren somit die zweithäufigste Ursache für diese Symptomatik im Kindesalter. Epidemien durch enterale Adenoviren wurden ebenfalls beschrieben. Ebenso wie bei den Rotaviren ist eine genaue Diagnostik des Erregers zur Vermeidung nosokomialer Infektionen wichtig.

Rotaviren sind die wichtigsten Erreger einer nicht-bakteriellen Gastroenteritis bei Kindern im Alter von 6 Monaten bis 3 Jahren. Sie werden aber auch bei älteren Kindern und Erwachsenen als Erkrankungsursache nachgewiesen. In Risikogruppen, d. h. bei Kindern und alten oder immunsupprimierten Patienten, können sie zum Tod führen. Rotavirus-Infektionen treten gehäuft in den Wintermonaten auf. Endemien und Epidemien mit einigen tausend Erkrankten wurden ebenfalls beschrieben. Bei hospitalisierten Kindern mit akuten Enteritiden sind bis zu 50 % der untersuchten Proben Rotavirus-positiv. Die fäkal-oral übertragenen Rotaviren werden in großen Mengen in den Darm ausgeschieden, so dass nosokomiale Infektionen durch Rotaviren besonders in Säuglingsstationen und Kinderkliniken sehr gefürchtet sind und ihr Management schwierig ist. Ein früher und verlässlicher Nachweis zur Erkennung von Rotaviren und zur Vermeidung weiterer Infektionen ist also sehr wichtig.

3. Testprinzip

Der vorliegende Schnelltest ist ein einstufiger immunchromatografischer Lateral-Flow Test, bei dem jeweils gegen die beiden Viren gerichtete monoklonale Antikörper an rote (Rotavirus-spezifisch) oder an blaue (Adenovirus-spezifisch) Latexpartikel gekoppelt sind. Weitere spezifische Antikörper gegen die beiden Erreger sind fest auf der Membran gebunden. Zunächst wird die Stuhlprobe im Extraktionspuffer suspendiert und anschließend sedimentiert. Ein Aliquot des klaren Überstandes der Probe wird auf den Teststreifen gebracht, wobei diese dann mit den farbigen Latexpartikeln, an die sich im positiven Falle vorhandenes Antigen bindet, durch die Membran läuft und an den spezifischen Fängerbanden gebunden wird. Je nach vorhandenem Antigen in der Probe wird dann eine blaue und/oder rote Bande sichtbar.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 20 Bestimmungen

Cassette	20 Best.	20 einzeln verpackte Testkassetten
Diluent	26 ml	Extraktionspuffer, gebrauchsfertig; enthält 0,1 % Natriumazid
Pipet	25 Stck.	Beutel mit 25 Einwegpipetten

5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Packung kann bei 2 – 30 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Ebenso kann eine Verwendungsfähigkeit von Kassetten dann nicht mehr gewährleistet werden, wenn die Umverpackung der einzelnen Kassetten beschädigt ist.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

- Probenröhrchen für Stuhlsuspension
- Vortexmischer (optional)
- Mikropipette (200 µl – 1000 µl)
- Abfallbehälter mit einer 0,5%igen Natrium-Hypochloritlösung

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.

Der Probenverdünnungspuffer enthält als Konservierungsmittel Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren, Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden. Während des Umgangs mit Proben Einmal-Handschuhe tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In den Bereichen, in denen mit den Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen genau wie diese vor ihrer Entsorgung mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben sind in sauberen Behältern ohne irgendwelche Zusätze zu sammeln und vor Testbeginn bei 2 – 8 °C zu lagern. Bei Lagerung von mehr als 3 Tagen muss die Probe bei -20 °C eingefroren werden. In diesem Fall wird die Probe vor Testbeginn vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden.

Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 50 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

9. Testdurchführung

9.1. Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, der Extraktionspuffer sowie die Testkassetten auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) zu bringen. Die Testkassetten sollten erst kurz vor Verwendung durch Aufreißen der Umverpackung entnommen werden. Einmal benutzte Kassetten dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden.

Überschüssiges Reagenz darf nicht in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

9.2. Vorbereitung der Proben

In ein gekennzeichnetes Teströhrchen wird 1 ml Extraktionspuffer **Diluent** vorgelegt. Im Falle **flüssiger** Stuhlprobe werden mit der Einwegpipette **Pipet** 100 µl (bis kurz oberhalb der zweiten Verdickung) davon im vorgelegten Puffer suspendiert. Bei **fester** Stuhlprobe werden 50 mg im Puffer suspendiert. Anschließend muss die Probe gut homogenisiert werden. Dies erfolgt entweder durch mehrfaches Aufsaugen und Ausstoßen der Suspension mit der Einwegpipette **Pipet** oder alternativ durch Mischen auf einem Vortexmixer. Danach die homogene Suspension mindestens **3 Minuten** sedimentieren lassen bis sich ein klarer Überstand bildet.

9.3. Proben-Testung

Die der Umverpackung entnommene Testkassette **Cassette** wird auf eine ebene Unterlage gelegt. Anschließend werden vom klaren Überstand der Stuhlsuspension 200 µl mittels Mikropipette oder 4 Tropfen mit der Einwegpipette **Pipet** in die runde Öffnung der Testkassette pipettiert. Es ist darauf zu achten, dass die Flüssigkeit ungehindert durch die Membran läuft. Eventuell mitpipettierte Partikel, die dies behindern können, sind vorher zu entfernen. Nach **5 Minuten** kann das Testergebnis abgelesen werden.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn die Testkassette **vor** dem Einpipettieren der Proben-suspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden auf der Membran zu sehen sind. Ferner muss **nach** der Testinkubation mindestens die **grüne** Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der Testkassetten und des verwendeten Extraktionspuffers
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination des Extraktionspuffers

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einer neuen Testkassette die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributeur.

11. Auswertung und Interpretation

Es dürfen maximal drei Banden erscheinen, von der Probenauftragestelle gesehen in folgender Reihenfolge : Eine blaue (T_1 = Testbande 1), eine rote (T_2 = Testbande 2) und eine grüne (C = Kontrollbande) Bande. **Fehlt die grüne Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig !**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Adenovirus positiv** : **blaue** und **grüne** Bande sind sichtbar.
- **Rotavirus positiv** : **rote** und **grüne** Bande sind sichtbar.
- **Adenovirus und Rotavirus positiv** : **blaue**, **rote** und **grüne** Bande sind sichtbar.
- **Negativ** : nur **grüne** Bande ist sichtbar.
- **Ungültig** : keine Bande ist sichtbar oder eine andere Konstellation als oben beschrieben sowie andere Verfärbungen der Banden. Ebenso sind Banden-Verfärbungen, die erst nach 10 Minuten oder später auftreten ohne diagnostischen Wert und nicht zu beurteilen.

12. Grenzen der Methode

Der RIDA[®]QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi Test weist Antigen von Rotavirus und / oder Adenovirus in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Banden 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 Rotavirus-/Adenovirus-Infektion nicht aus. Es kann durch intermittierende Ausscheidung der Erreger oder durch eine zu geringe Antigenmenge in der Probe verursacht sein.

Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit den gesuchten Erregern, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann bräunliche Banden verursachen anstelle der sonst spezifisch gefärbten Banden. Diese bräunlichen Banden haben keinen diagnostischen Wert. In solchen Fällen ist eine erneute Testung mit einer geringeren Stuhlmenge oder einer weiteren Verdünnung der bereits hergestellten Suspension (klarer Überstand nach Sedimentation) erforderlich, um zu klären, ob die gesuchten Erreger doch in der Probe sind und durch zuviel eingesetzte Stuhlmatrix überlagert wurden.

13. Leistungsmerkmale

Die Sensitivität und Spezifität des vorliegenden Tests wurde anhand von klinischen Proben im Vergleich zu einem kommerziellen Elisa getestet. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle dargestellt.

Adenovirus		RIDA®QUICK	
		+	-
Elisa	+	9	1
	-	0	189

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

Sensitivität : 90 %
Spezifität : 100 %
Pos. Vorhersagewert : 100 %
Neg. Vorhersagewert : 99,5 %

Sensitivität : 100 %
Spezifität : 99 %
Pos. Vorhersagewert : 99,1 %
Neg. Vorhersagewert : 100 %

Desweiteren wurde der RIDA®QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi-Schnelltest in einer retrospektiven Studie mit einem weiteren kommerziellen Combi- Schnelltest gegen PCR-Methoden verglichen. Die untersuchten Proben stammten aus einer multizentrischen Studie mit Kindern unter 4 Jahren, die ambulant oder hospitalisiert wegen einer Gastroenteritis-Symptomatik behandelt wurden.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

		RIDA® QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi				Coris Bioconcept Combi-Stick			
		Rotavirus		Adenovirus		Rotavirus		Adenovirus	
		+	-	+	-	+	-	+	-
PCR	+	45	1	32	12	44	2	23	21
	-	3	51	1	55	1	53	0	56
Sensitivity		97,8 %		72,7 %		95,7 %		52,3 %	
Specificity		94,4 %		98,2 %		98,1 %		100,0 %	
PPV		93,8 %		97,0 %		97,8 %		100,0 %	
NPV		98,1 %		80,9 %		96,4 %		72,7 %	
Accuracy		96,0 %		87,0 %		97,0 %		79,0 %	

Literatur

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. Micro. 19, 888-892 (1984)
14. Horwitz, M.S.: Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, 477 - 495.
15. Wigand, R. and Th. Adrian: Die Diagnostik von Adenovirus-Infektionen. Internist 26, 109 - 112 (1985).
16. Wigand, R.: Klinische Relevanz von Adenovirusinfektionen. Laboratoriums-blätter 30, 118 - 123 (1980).

17. 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).
18. Mallet, R., M. Riberre, F. Bonnenfant, B. Labrune and L. Reyrole: Les pneumopathies graves a adeno-virus. *Arch. Fr. Pediatr.* 23, 1057 - 1073 (1966).
19. 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).
20. 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).
21. Uhnou, 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).
22. 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).
23. Cukor G. and N.R. Blacklow: Human viral gastroenteritis. *Microbiological Reviews* 48, 157 - 179 (1984).
24. Mogabgab, W.J.: Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959 - 1966. *Am. Rev. Respir. Dis.* 97, (345 - 358) (1968).
25. Richmond, S.J., E.O. Caul, S.M. Dunn, C.R. Ashley, S.K.R. Clarken: An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. *Lancet* 1, 1178 - 1180 (1979).
26. 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).