

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

X

1. Campo di applicazione

Per diagnostica *in vitro*. Il RIDA®QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione qualitativa di Rotavirus e/o Adenovirus in campioni di feci.

2. Sintesi e spiegazione del test

Gli **adenovirus** sono stati scoperti nel 1953 da Rowe e co. nel tessuto adenoidale. La loro importanza eziologica nella affezioni respiratorie acute è stata quindi presto riconosciuta. Gli adenovirus possono causare faringiti acute, febbre faringo-congiuntivale, bronchiti e polmoniti. Nei bambini di età inferiore ai 5 anni, circa il 5 % delle affezioni respiratorie acute è riconducibile agli adenovirus. Circa il 10 % delle polmoniti in età infantile è causato da adenovirus. L'importanza degli adenovirus nelle affezioni gastrointestinali è stata a lungo incerta. Nel frattempo, è stato tuttavia stabilito, che singoli tipi di adenovirus, difficilmente sottoponibili a colture cellulari, causano affezioni gastrointestinali. Nei bambini affetti da gastroenterite acuta, nel 4 - 14 % dei casi, viene rilevata la presenza di adenovirus nei campioni di feci. Dopo i rotavirus, essi costituiscono la causa più frequente di tale sintomatologia in età infantile. Sono state altresì descritte epidemie da adenovirus enterici. Così come per i rotavirus, una corretta diagnosi dell'agente patogeno è importante per prevenire infezioni nosocomiali.

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 immunosoppressi, possono causare il decesso. 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 fecale-orale, 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 inoltre un'estrema importanza per l'identificazione di rotavirus e per evitare ulteriori infezioni.

3. Principio del test

Il presente test rapido è un test Lateral-Flow immunocromatografico monofase, nel quale anticorpi specifici mirati contro entrambi i rispettivi virus sono accoppiati a particelle di lattice rosse (Rotavirus specifici) o blu (Adenovirus specifici). Altri anticorpi specifici contro entrambi gli

agenti patogeni sono saldamente fissati alla membrana. In primo luogo sospendere il campione di feci nel tampone di estrazione e quindi sedimentare. Applicare sulla striscia per test una aliquota di supernatante chiaro di campione che, insieme con le particelle di lattice colorate, alle quali si lega l'antigene presente nei casi positivi, scorre attraverso la membrana per poi legarsi alle bande di raccolta specifiche. A seconda dell'antigene presente nel campione sarà visibile una banda blu e/o rossa.

4. Contenuto della confezione

I reagenti di una confezione bastano per 20 determinazioni

| | | |
|----------|----------|---|
| Cassette | 20 Det. | 20 cassette per test confezionate singolarmente |
| Diluent | 26 ml | Tampone di estrazione, pronto per l'uso; contiene 0,1 % di azoturo di sodio |
| Pipet | 25 Pezzi | Busta con 25 pipette monocanale |

5. Reagenti e relativa conservazione

La confezione può essere conservata a 2 – 30 °C ed è utilizzabile fino alla data di scadenza stampata. Dopo la data di scadenza, non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità. Analogamente, la funzionalità delle cassette non può essere garantita, se l'imballaggio delle singole cassette è danneggiato.

6. Reagenti aggiuntivi necessari - accessori richiesti

- Anse di inoculazione per sospensione fecale
- Miscelatore vortex (opzionale)
- Micropipetta (200 µl - 1000 µl)
- Contenitore di rifiuti con soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5 %

7. Precauzioni

Solo per diagnostica *in vitro*.

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

Il tampone di diluizione dei campioni contiene azoturo di sodio come conservante. Evitare il contatto con la pelle o con le mucose.

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.

Tutti i reagenti e materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati, esattamente come i campioni, prima dello smaltimento, con adeguato disinfettante (ad es. ipoclorito di sodio) o sottoposti a sterilizzazione a vapore per almeno un'ora a 121 °C.

8. Raccolta e deposito dei campioni

I campioni di feci devono essere raccolti in contenitori puliti senza alcuna aggiunta e devono essere conservati prima dell'inizio del test a 2 – 8 °C. In caso di conservazione per più di 3 giorni, il campione deve essere congelato a - 20 °C. In questo caso scongelare completamente il campione prima dell'inizio del test e portare a temperatura ambiente. Evitare il ripetuto congelamento e scongelamento del campione.

Nell'inserimento dei prelievi rettali, assicurarsi che sia presente una quantità sufficiente di materiale fecale (ca. 50 mg) per l'esecuzione del test.

9. Esecuzione del test

9.1. Generalità

Prima dell'utilizzo portare campioni, tampone di estrazione e cassette per test a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Le cassette per test devono essere rimosse dall'imballaggio con apertura a strappo solo poco prima dell'utilizzo. Le cassette usate non possono essere riutilizzate. Evitare l'esposizione diretta all'irradiazione solare durante l'esecuzione del test.

Il reagente in eccesso non deve essere nuovamente riposto nei contenitori, in quanto ciò potrebbe causare contaminazione.

9.2. Preparazione dei campioni

Introdurre in una provetta graduata 1 ml di tampone di estrazione **Diluent**. In caso di campioni di feci **liquide** sospendere 100 µl di campione con la pipetta monocanale **Pipet** (fino a fino a superare di poco il secondo spessore) nell'apposito tampone. In caso di campioni di feci **solide** sospendere 50 mg nel campione. Quindi omogeneizzare bene il campione. L'omogeneizzazione avviene o per introduzione ed espulsione ripetuta della sospensione mediante la pipetta monocanale **Pipet** o in alternativa miscelando con un miscelatore vortex. Lasciare quindi sedimentare la sospensione omogeneizzata per almeno **3 minuti** fino a quando non si forma un supernatante chiaro.

9.3. Esame dei campioni

Riporre la cassetta per test **Cassette** rimossa dall'imballaggio su superficie piana. Introdurre nell'apertura di inserimento rotonda della cassetta per test 200 µl di supernatante chiaro di sospensione fecale mediante micropipetta o 4 gocce mediante la pipetta monocanale **Pipet**. Assicurarsi che il liquido fluisca liberamente attraverso la membrana. Rimuovere precedentemente eventuali particelle introdotte mediante pipetta che potrebbero ostacolare tale flusso. Il risultato del test può essere letto dopo **5 minuti**.

10. Controllo della qualità - Segni di scadenza dei reagenti

Il test deve essere valutato, solo quando la cassetta per test **prima** della introduzione mediante pipetta della sospensione di campione è intatta e non sono presenti alcune variazioni o striature cromatiche sulla membrana. Inoltre **dopo** l'incubazione del test deve essere visibile almeno la banda di controllo **verde**. Qualora quest'ultima non appaia, prima di ripetere il test occorre verificare quanto segue:

- periodo di conservazione delle cassette per test e del tampone di estrazione utilizzato
- corretta esecuzione del test
- contaminazione del tampone di estrazione

Qualora dopo la ripetizione del test con una nuova cassetta per test la banda di controllo non sia nuovamente visibile, rivolgersi al produttore o al proprio distributore locale R-Biopharm.

11. Valutazione e interpretazione

Devono apparire un massimo di tre bande, viste nella seguente successione dal punto di prelievo del campione: Una banda blu (T_1 = Banda per test 1), una rossa (T_2 = banda per test 2) e una verde (C = banda di controllo). **Se manca la banda di controllo verde, il test non è valutabile e non è valido!**

Sono possibili le seguenti interpretazioni:

- **Adenovirus positivo** : le bande **blu** e **verde** sono visibili.
- **Rotavirus positivo** : le bande **rossa** e **verde** sono visibili.
- **Adenovirus e Rotavirus positivo** : le bande **blu**, **rossa** e **verde** sono visibili.
- **Negativo** : è visibile solo la banda **verde**.
- **Non valido**: nessuna banda è visibile o è presente un'altra combinazione rispetto a quanto sopra descritto o un'altra colorazione delle bande. Analogamente, non hanno valore diagnostico e non sono da valutarsi cambiamenti di colore delle bande che compaiono solo dopo 10 minuti o oltre.

12. Limiti del metodo

Il RIDA®QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi rileva l'antigene di rotavirus e/o adenovirus in campioni di feci. Non è possibile dedurre una relazione tra l'intensità delle bande specifiche visibili e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. **I risultati ottenuti devono essere sempre interpretati in relazione al quadro clinico.**

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

Un risultato **negativo** non esclude una possibile infezione da rotavirus/adenovirus. Tale risultato può essere causato dall'espulsione intermittente dell'agente patogeno o dalla quantità troppo scarsa di antigene nel campione. Qualora sussista a livello anamnestico il fondato sospetto di una infezione causata dagli agenti patogeni ricercati, occorre esaminare un ulteriore campione di feci del paziente.

L'eccesso di campioni di feci può causare bande marroni al posto delle bande colorate specifiche. Tali bande marroni non hanno alcun valore diagnostico. In tal caso è necessario eseguire un nuovo test con una minore quantità di feci o con un'ulteriore diluizione della sospensione già prodotta (supernatante chiaro dopo la sedimentazione), per chiarire se gli agenti patogeni ricercati sono comunque nel campione e se sono stati sommersi da un'eccessiva introduzione di matrice fecale.

13. Prestazioni opzionali

La sensibilità e specificità del presente test è stata verificata sulla base di campioni clinici in confronto ad un test commerciale Elisa. I risultati sono illustrati nella tabella seguente.

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

Sensibilità: 90 %
Specificità: 100 %
Valore predittivo pos.: 100 %
Valore predittivo neg.: 99,5 %

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

Sensibilità: 100 %
Specificità: 99 %
valore predittivo pos.: 99,1 %
valore predittivo neg.: 100 %

Il test rapido RIDA®QUICK Rotavirus/Adenovirus Combi è stato inoltre confrontato, in uno studio retrospettivo insieme con un altro test rapido Combi commerciale, rispetto ai metodi PCR. I campioni testati provenivano da uno studio multicentrico con bambini al di sotto dei 4 anni, trattati in regime ambulatoriale o di ricovero per sintomatologia da gastroenterite.

I risultati sono riassunti nella Tabella 2.

| | | 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 % | |

Letteratura

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., Liong, 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).