

RIDA[®] QUICK Rotavirus

Art. No.: N0902



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 ist ein immunchromatografischer Schnell-test zum qualitativen Nachweis von Rotaviren in Stuhlproben.

2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

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 gegen Rotavirus gerichtete spezifische Antikörper an rote Latexpartikel gekoppelt sind. Weitere spezifische Antikörper gegen den Erreger sind fest auf der Membran gebunden. Zunächst wird die Stuhlprobe im Extraktionspuffer suspendiert und anschließend sedimentiert. Der Teststreifen wird in den klaren Überstand der Probe getaucht, wobei diese dann mit den farbigen Latexpartikeln, an die sich im positiven Falle vorhandenes Antigen bindet, durch die Membran läuft und an der spezifischen Fängerbande gebunden wird.

4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 25 Bestimmungen

Strip	25 Best.	Röhrchen mit 25 Teststreifen
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. Das Röhrchen mit den Teststreifen enthält ein Trocknungsmittel und darf zur Vermeidung von Feuchtigkeit nicht offen stehen gelassen werden. Es ist nach jeder Entnahme von Teststreifen wieder sorgfältig zu verschließen.

6. Zusätzlich benötigte Reagenzien- erforderliches Zubehör

- Probenröhrchen für Stuhlsuspension
- Röhrchen (optional: unbeschichtete Mikrotiterwells) für Überstand der Suspension
- 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 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 Teststreifen auf Raumtemperatur (20 – 25 °C) zu bringen. Das Röhrchen mit den Teststreifen ist erst bei Erreichen der Raumtemperatur zu öffnen und nach Entnahme der benötigten Teststreifen wieder zu verschließen. Einmal benutzte Teststreifen dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden.

Überschüssiges Reagenz darf nicht wieder 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, von dem anschließend mindestens **200 µl** bis maximal **500 µl** in ein weiteres sauberes Röhrchen (oder unbeschichtetes Mikrotiterwell) überführt werden.

9.3. Proben-Testung

Der Teststreifen **Strip** wird dem Röhrchen entnommen und in die vorbereitete Probe eingetaucht. Der Teststreifen darf dabei nur soweit eintauchen, dass die durch Pfeile markierte Linie nicht überschritten wird. Nach **5 Minuten** kann das Testergebnis abgelesen werden.

10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn der Teststreifen **vor** dem Einbringen in die hergestellte Probensuspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu sehen sind. Ferner muss **nach** der Testinkubation mindestens die **blaue** Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

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

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einem neuen Teststreifen 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 zwei Banden erscheinen, von der Probenaufnahmestelle gesehen in folgender Reihenfolge: Eine rote Reaktionsbande und eine blaue Kontrollbande. **Fehlt die blaue Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig !**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Rotavirus positiv** : die **rote** und **blaue** Bande sind sichtbar.
- **Rotavirus negativ** : nur die **blaue** 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 weist Antigen von Rotavirus in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Bande 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 Infektion mit Rotaviren 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 dem gesuchten Erreger, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann bräunliche Banden verursachen anstelle der 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 der gesuchte Erreger doch in der Probe ist und durch zuviel eingesetzte Stuhlmatrix überlagert wurde.

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.

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

Sensitivität : 100 %

Spezifität : 99 %

Pos. Vorhersagewert : 99,1 %

Neg. Vorhersagewert : 100 %

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., 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)