

ROTA-CHECK-1

Test Rapido Immunocromatografico per il rilevamento del Rotavirus nelle feci

I. PRINCIPIO

Rotavirus, un virus a RNA 65-nm della famiglia dei *Reoviridae* rappresenta una delle principali cause delle infezioni gastrointestinali soprattutto nei lattanti e nei bambini(1) con casi osservati anche in ragazzi e adulti (2,3). L'infezione può provocare la morte per la popolazione a rischio come lattanti, giovani bambini e pazienti con problemi immunitari(4,5).

Nelle zone a clima temperato, le infezioni da Rotavirus si osservano soprattutto nei mesi invernali. Sono stati registrati episodi endemici così come epidemie che hanno colpito migliaia di persone. (6)

Tra i campioni analizzati provenienti da bambini ricoverati con gastroenteriti in forma acuta, più del 50% risultavano positivi al Rotavirus (7). L'infezione da Rotavirus può essere facilmente trasmessa dato che il virus si genera nell'intestino e viene secreto con le feci. Perciò infezioni nosocomiali da Rotavirus sono pericolose, in modo particolare nei reparti pediatrici e neonatali e il loro controllo risulta difficile.

Contrariamente ai metodi classici (microscopia elettronica e colture cellulari) che richiedono lavoro e tempo, ROTA-CHECK-1 è un test rapido, semplice e altamente sensibile per il rilevamento dell'antigene del Rotavirus nelle feci.

Il metodo impiega una combinazione unica d'anticorpi monoclonali e policlonali in fase solida per identificare selettivamente il Rotavirus con un alto grado di sensibilità e specificità.

Dopo la raccolta in una provetta contenente soluzione d'estrazione, il campione viene sciolto e dispensate alcune gocce d'estratto nel pozzetto (A) del dispositivo di reazione.

Quando il campione fluisce attraverso il dispositivo assorbente, l'anticorpo-gold coniugato si lega all'antigene del Rotavirus (eventualmente presente nel campione) formando un complesso antigene-anticorpo.

Questo complesso si lega all'anticorpo policlonale immobilizzato nella finestra di reazione positiva (B) producendo una banda di colore rosa.

In assenza di Rotavirus, non si forma alcuna banda nella finestra (B). Il campione continua a fluire lungo il dispositivo assorbente, attraversando la zona di reazione positiva e la zona del controllo.

Il coniugato libero si lega al reagente nella zona del controllo (C) producendo una banda di colore rosa che dimostra che i reagenti hanno funzionato correttamente.

II. COMPONENTI DEL ROTA-CHECK-1

Ogni kit contiene il necessario per eseguire 10 o 20 test:

- dispositivi ADENO-CHECK-1	10 20
- pipette monouso,	10 20
- provette riempite con 2 ml di soluzione di estrazione	10 20
- applicatori	10 20
- foglietto illustrativo	1 1

III. STOCCAGGIO E STABILITÀ

1. Il ROTA-CHECK-1 kit dovrebbe essere conservato a temperatura ambiente (4°- 30° C).

2. **Non congelare il kit.**

3. ROTA-CHECK-1 è stabile fino alla data di scadenza scritta nell'etichetta della confezione.

IV. PRECAUZIONI

1°) Solo per uso *in vitro*.

2°) Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test.

3°) Non utilizzare dopo la data di scadenza.

4°) Tutti i reagenti e i materiali venuti in contatto con campioni potenzialmente infetti devono essere trattati con disinfettanti appropriati o autoclavati a 121°C per almeno un ora.

5°) Non utilizzare il dispositivo conservato in un involucro protettivo danneggiato.

V. ISTRUZIONI PER LA RACCOLTA E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

1) Note preliminari:

I campioni di feci dovrebbero essere raccolti il più presto possibile dopo l'insorgenza dei sintomi.

Il picco del contenuto virale si osserva da uno a 3-5 giorni dopo l'insorgenza dei sintomi.

Campioni raccolti dopo 8 giorni dall'insorgenza dei sintomi possono non contenere abbastanza antigene Rotavirus da produrre una reazione positiva.

Campioni diluiti possono essere stoccati a 2-8°C per 3 giorni senza interferenze con la performance del test.

Per stoccaggi a lungo termine, conservare i campioni non diluiti a -20°C. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni, può causare errori nei risultati.

Attenzione! Non raccogliere i campioni in contenitori contenenti sostanze conservanti, terreni di coltura, siero animale o detergenti perché tali sostanze potrebbero interferire con il test.

2) Procedura:

a) Scrivere il nome del paziente nella provetta in plastica contenente la soluzione d'estrazione.

b) Aprire la provetta e, usando l'applicatore, trasferire un campione di feci (del volume di un pisello) nella provetta. In caso di feci liquide, trasferire 200µl di liquido nella provetta.

c) Chiudere bene il tappo e mescolare le feci con la soluzione d'estrazione agitando bene.

d) Lasciare depositare il particolato sul fondo della provetta o centrifugare a 500-1 000 RPM per 1 minuto.



VI. PROCEDURA

- 1) Portare tutti i reagenti a temperatura ambiente.
- 2) Rimuovere il test dalla bustina termosaldada
- 3) Aprire la provetta contenente l'estratto.
- 4) Usando la pipetta monouso in plastica, dispensare 6 gocce (200 µl) d'estratto nel pozzetto (A).
- 5) Leggere il risultato del test dopo 10 minuti.

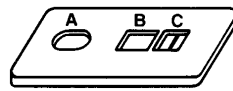
VII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

A. Negativo

Compare solo una banda colorata nella finestra di controllo "C".

Nessuna banda è visibile nella finestra del test "B"

Il campione non contiene Rotavirus.

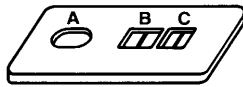


Negative

B. Positivo

Oltre alla banda di controllo, compare una banda chiaramente distinta anche nella finestra del test "B".

Il campione contiene Rotavirus.



Positive

C. Non valido

Non compare la banda del controllo. Ripetere il test.

VIII. CARATTERISTICHE

a) Sensibilità e Specificità:

E' stato eseguito uno studio su 70 campioni di feci pre-testati con FUMOUZE latex (ROTALEX) e ha dato risultati positivi

		ROTA-CHECK-1	
		+	-
LATEX	+	30	0
	-	0	40

Table 1 : Valutazione dei risultati

Dalla tabella, c'è un 100% di correlazione per sensibilità e specificità tra il ROTALEX test e il ROTA-CHECK-1.

b) Reazioni incrociate:

Campioni di feci positivi ad enterovirus o astrovirus risultano negativi quando testati con ROTA-CHECK-1 test rapido.

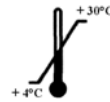
Colture cellulari concentrate di adenovirus risultano negative quando testate con ROTA-CHECK-1.

IX. LIMITAZIONI

- 1) ROTA-CHECK-1 è specifico per il rilevamento dell'antigene del Rotavirus nelle feci.
- 2) Come per tutti i test di screening, il medico deve confermare la diagnosi ottenuta usando il test con altri metodi clinici.
- 3) La presenza di sangue nelle feci in quantità significativa può portare a risultati falsi positivi in limitati casi.

X. BIBLIOGRAFIA

- 1-Kapi A.Z., H. W. Kim, R.G. Wyatt, W.L. Cline, J.O. Arrobio, C.D. Brandt, W. J. Rodriguez, D.A. Sack, R.M. Chanock, and R.H. Parrott. 1976. Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. N. Engl.j.Med. 294:965-972.
- 2-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).
- 3-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.
- 4-Cubitt W.D.: Rotavirus Infection : An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1,33-38 (1982).
- 5-Coulson B.S. and Holmes I.H. : An Improved Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates. J. Virol. Methods 8, 165-179 (1984).
- 6-Hung T., Wang Ch., Fang Z, Chou Z, Chang X, Liong X, Chen G., Yao H., Chaon 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).
- 7-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).



Temperatura di conservazione



Consultare la metodica acclusa nel kit



Non riutilizzare



Per uso diagnostico *in vitro*

Prodotto da VEDALAB - Francia

ROTA-CHECK-1

Immunochromatographic rapid test for the detection of Rotavirus in feces

I. PRINCIPLE

Rotavirus, a 65-nm RNA virus of the family *Reoviridae*, is a major cause of infectious gastroenteritis in infants and young children (1) with the illness also being observed in older children and adults (2, 3). Rotaviral gastroenteritis may result in mortality for populations at risk such as infants, the elderly and immunocompromised patients (4, 5).

In temperate climates, Rotavirus infections occur mainly in the winter months. Endemics as well as epidemics affecting some thousand people have been reported (6). With hospitalised children suffering from acute enteric disease up to 50 % of the analysed specimen were positive for Rotavirus (7).

Rotavirus infection can be easily transferred as the virus breeds in the gut and is secreted with feces.

Therefore, nosocomial infections with Rotaviruses are dangerous, particularly in paediatric wards and neonatal nurseries, and their management is difficult.

ROTA-CHECK-1, contrary to the classical methods (electron microscopy and cell cultures) which are laborious and time consuming, is a fast, simple and highly sensitive test for the rapid and reliable detection of rotavirus antigen in the feces.

The method employs a unique combination of monoclonal dye conjugate and polyclonal solid phase antibodies to selectively identify rotavirus with a high degree of sensitivity and specificity. After collection in a tube containing extraction solution, the sample is dissolved and a few drops of this extract are added to the sample well (A) of the reaction device.

As the test sample flows through the absorbent device, the labelled antibody-dye conjugate binds to the rotavirus antigen (when present in the sample) forming an antibody antigen complex.

This complex binds to the polyclonal antibody in the positive reaction window (B) producing a rose-pink coloured band.

In the absence of rotavirus, there is no band in the positive reaction zone. The reaction mixture continues flowing through the absorbent device, past the positive reaction zone and control zone.

Unbound conjugate binds to the reagent in the control window (C) producing a pink-rose coloured band demonstrating that the reagents are functioning correctly.

II. ROTA-CHECK-1 KIT COMPONENTS

Each kit contains everything needed to perform 10 or 20 tests.

- ROTA-CHECK-1 devices	10	20
- Disposable plastic pipettes	10	20
- Plastic tubes filled with 2 mL of extraction solution	10	20
- Sample applicators	10	20
- Instructions leaflet	1	1

III. STORAGE AND STABILITY

1- All ROTA-CHECK-1 kit components are to be stored at room temperature (+4°C to +30°C).

2- Do not freeze the test kit.

3- ROTA-CHECK-1 is stable until the expiry date stated on the package label.

IV. PRECAUTIONS

1- This test is designed for *in vitro* diagnostic use and professional use only.

2- Read carefully instructions before using the test.

3- Do not use beyond the expiry date which appears on the package label.

4- All reagents and materials coming in contact with potential infectious specimens must be treated with appropriate disinfectants or autoclaved at 121°C for at least one hour.

5- Do not use the test from a damaged protective wrapper.

V. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1- Preliminary notes

Stool specimens should be collected as soon as possible after onset of symptoms.

Peak viral counts are reported to occur on days 3-5 after onset of symptoms.

Samples collected 8 days or more after onset of symptoms may not contain enough Rotavirus antigen to produce a positive reaction.

Diluted samples may be stored at +2°C to +8°C for 3 days without interference with the assay performance.

For long term storage of undiluted specimens, storage at -20°C or colder is recommended. Repeated freezing and thawing of samples is not recommended and may cause erroneous results.

Caution !

Do not collect specimens in containers having media, preservatives, animal serum or detergents, as any of these may interfere with the test.

2- Procedure

1- Label the plastic tube containing the extraction solution with patient's name or control number.

2- Open the tube and using the sample applicator, transfer a stool sample (volume of a pea) into the tube in case of solid stool. If the stool is liquid, transfer 200 µL of liquid into the tube.



- 3- Tighten the cap and mix the stool sample and the diluent by shaking well until the sample is dissolved.
- 4- Let the tube stand long enough for the large particles to settle to the bottom of the tube. Alternatively, centrifuge the tube at 500-1 000 RPM for 1 minute.

VI. ASSAY PROCEDURE

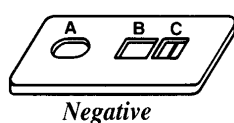
- 1- Bring all reagents at room temperature.
- 2- Remove the test device from the pouch.
- 3- Open the plastic tube containing the extracted sample.
- 4- Using the plastic pipette, add 6 drops (200 µL) of the extracted solution into the sample well (A).
- 5- Read the results of the test 10 minutes after addition of the sample to the device.

VII. READING TEST RESULTS

A. Negative

Only one coloured band shows in the control window (C). No band is visible in the test window (B).

The sample does not contain Rotavirus.

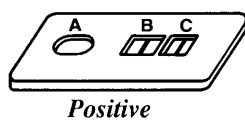


Negative

B. Positive

In addition to the control band, a clearly distinguishable band also shows in the test window (B).

The sample contains Rotavirus.



Positive

C. Inconclusive

If there is no distinct coloured band visible in both test and control windows, the test is inconclusive. In this case, it is recommended to repeat the test with another device.

VIII. PERFORMANCES CHARACTERISTICS

a) Sensitivity and specificity

A study was performed on 70 stool samples pretested with FUMOUZE latex (ROTALEX) and gave positive results.

		ROTA-CHECK-1	
		+	-
LATEX	+	30	0
	-	0	40

Table 1 : Evaluation results

From the above table, there was 100% correlation for sensitivity and specificity between the ROTALEX test and ROTA-CHECK-1 rapid test.

b) Cross reactivity

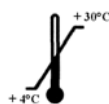
Stool samples enterovirus or astrovirus positive showed negative results when tested using ROTA-CHECK-1 rapid test. Adenovirus concentrated cellular cultures showed repeatedly negative results when tested with ROTA-CHECK-1.

IX. LIMITATIONS

- 1- ROTA-CHECK-1 is specifically designed to detect rotavirus antigen in the stool samples.
- 2- As for any diagnostic procedure, the physician should confirm the data obtained using this test by other clinical methods.
- 3- The presence of blood in the feces samples in significant quantity may lead to false positive results in limited cases.

X. BIBLIOGRAPHY

- 1-Kapi A.Z., H. W. Kim, R.G. Wyatt, W.L. Cline, J.O. Arrobio, C.D. Brandt, W. J. Rodriguez, D.A. Sack, R.M. Chanock, and R.H. Parrott. 1976. Human reovirus-like agent as the major pathogen associated with "winter" gastroenteritis in hospitalized infants and young children. N. Engl.J.Med. 294:965-972.
- 2-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).
- 3-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.
- 4-Cubitt W.D.: Rotavirus Infection : An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1,33-38 (1982).
- 5-Coulson B.S. and Holmes I.H. : An Improved Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates. J. Virol. Methods 8, 165-179 (1984).
- 6-Hung T., Wang Ch., Fang Z, Chou Z, Chang X, Liang X, Chen G., Yao H., Chaon 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).
- 7-Cukor G. , Perron D.M., Hudson R. and Blacklow N. R. : Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Microl. 19, 888-892 (1984).



Temperature limitations



Consult operating instructions



Do not re-use



In vitro diagnostic use

Manufactured by VEDALAB - France