

INTENDED USE

The CerTest Rota-Adeno Card is a one step coloured chromatographic immunoassay for the qualitative detection of Rotavirus and/or Adenovirus in stool samples.

INTRODUCTION

Rotavirus and Adenovirus are major causes of infectious gastroenteritis in infants and young children, also observed in adults. They are transmitted by fecal-oral contact. The main symptoms of viral gastroenteritis are watery diarrhoea and vomiting. The affected person may also have headache, fever, and abdominal cramps ("stomach ache"). In general, the symptoms begin 1 to 2 days following infection with a virus that causes gastroenteritis and may last for 1 to 10 days, depending on which virus causes the illness (Rotavirus 3 days and Adenovirus 5-8 days).

PRINCIPLE OF THE TEST

The CerTest Rota-Adeno Card is a qualitative immunochromatographic assay for the determination of Rotavirus and Adenovirus in feces samples. The membrane is pre-coated with mouse monoclonal antibodies, on the test band region, against viral antigens. During testing, the sample is allowed to react with the coloured conjugate (anti-rotavirus mouse monoclonal antibodies-red microspheres and anti-adenovirus mouse monoclonal antibodies-blue microspheres) which was pre-dried on the test. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the coloured particles migrate. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will capture the coloured particles. Different coloured lines will be visible, depending upon the virus content of the sample. These lines are used to interpret the result. The mixture continues to move across the membrane to the immobilized antibody placed in the control band region, a GREEN coloured band always appears. The presence of this GREEN band serves as 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) as an internal control for the reagents.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch at 2-30°C. The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

PRECAUTIONS

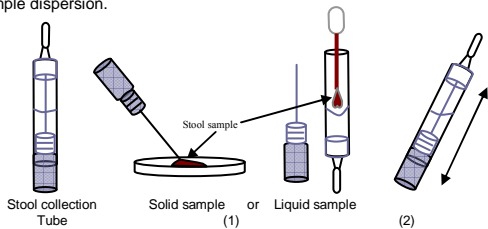
- For professional *in vitro* diagnostic use only.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers and the assay should be done right after collection. The samples can be stored in the refrigerator (2-4 °C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

Specimen preparation (see illustration):

- (1) Unscrew the tap and use the stick to pick up a little sample, if the stool sample was liquid take 100 µL using a pipette, and add the sample into the stool collection tube.
- (2) Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion.



MATERIALS PROVIDED

- Device tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes-sample diluent

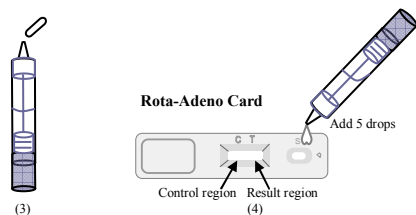
MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

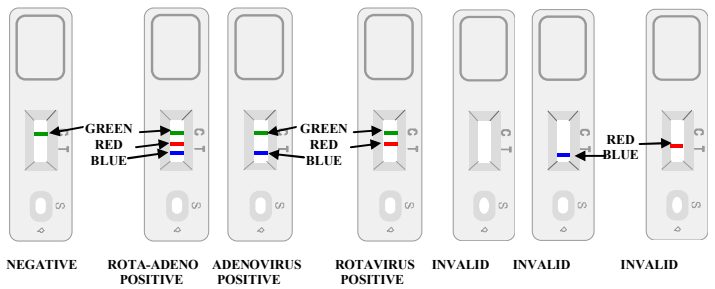
TEST PROCEDURE

Allow the test, stool samples and controls to reach to room temperature (15-30°C) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion. Cut the end of the top (3).
2. Remove the CerTest Rota-Adeno Card device from its sealed bag just before using.
3. Use a separate stool collection tube and device for each sample or control. Dispense exactly 5 drops or 150 µL into the circular window marked with an arrow (4).
- 4.- Read the result at **10 minutes** (the coloured bands appear).



INTERPRETATION OF RESULTS (please refer to the illustration below)



NEGATIVE: only one GREEN band appears across the central window in the site marked with the letter C (control line).

ROTAVIRUS POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a RED band (Rotavirus test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

ADENOVIRUS POSITIVE: in addition to the GREEN control band, a BLUE band (Adenovirus test line) also appears in the site marked with the letter T (results lines).

ROTAVIRUS-ADENOVIRUS POSITIVE: All the lines above described (a GREEN control band in the control region, a RED band and a BLUE band in the result region) could appear at the same time during the test performance due to a simultaneous infection of Rotavirus and Adenovirus.

INVALID: A total absence of the control coloured band (GREEN) regardless the appearance or not of the results lines (RED/BLUE). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact you local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red or blue coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value, nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. A green line appearing in the control region (C) is the internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of stool sample could cause wrong results (brown bands appear).
3. After one week of infection, the number of viruses in feces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
4. This test provides a presumptive diagnosis for Rotavirus and/or Adenovirus infections. A confirmed infection diagnosis should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated.

EXPECTED VALUES

Negative results are expected in healthy infants and young children, also in healthy adults.

PERFORMANCE

The evaluation was conducted comparing the results obtained using the CerTest Rota-Adeno Card to another commercial available Rota-Adeno membrane assay.

Sensitivity

The detection of Rotavirus showed >99% of concordance in sensitivity.

The detection of Adenovirus showed a 90% of concordance in sensitivity.

Specificity

The detection of Rotavirus showed a 98% of concordance in specificity.

The detection of Adenovirus showed >99% of concordance in specificity.

The use of mouse monoclonal antibodies in the elaboration of CerTest Rota-Adeno Card assures high degree of specificity for the detection of these viruses.

REFERENCES

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J., "Rotavirus Gene Structure and Function", *Microbiological Reviews*, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G., PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 19, 888-892

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	<i>In vitro</i> diagnostic device		Lot code
	Consult instructions for use		Catalogue number
	Keep dry		Contains sufficient for <n> tests
	Temperature limitation		Manufacturer
	Use by		Do not use if package damaged



CerTest
BIOTEC

María de Luna 11
E-50018 Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es



DOMAINE D'UTILISATION

Le test CerTest Rota-Adeno Card est un test immunochromatographique coloré d'une seule étape pour la détection qualitative rapide d'antigènes du Rotavirus et/ou Adénovirus dans les selles.

INTRODUCTION

Le Rotavirus et le Adénovirus représentent la cause principale de la gastro-entérite aiguë et de la diarrhée chez les enfants en bas âge et chez des adultes. Ces virus sont transmis par contact oro-fécal. Les symptômes principaux d'une gastro-entérite virale sont diarrhée aquatique et vomissement. La personne affectée peut souffrir du mal de tête, fièvre, et crampes abdominales (« douleur stomacale »). En général les symptômes commencent 1 ou 2 jours après l'infection avec un virus causant de gastro-entérite et peuvent durer entre 1 et 10 jours, dépendant du virus causant la maladie (Rota virus 3 jours et Adénovirus 5-8 jours).

PRINCIPE DU TEST

Le test CerTest Rota-Adeno Card est un test qualitatif de dosage immunochromatographie pour la détermination de Rotavirus et Adénovirus dans les selles. La membrane est antérieurement couverte avec des anticorps monoclonaux de souris sur la bande du test, contre antigènes viraux. Pendant le test, l'échantillon réagit avec le conjugué coloré (anticorps monoclonaux de souris anti-Rotavirus et microsphères rouges + anticorps monoclonaux de souris anti-Adénovirus et microsphères bleues) antérieurement séchés sur la membrane du test. Le mélange diffuse par capillarité à travers de la membrane. À mesure que le mélange s'écoule à travers la membrane, les particules colorées migrent. Si le résultat est positif, les anticorps spécifiques présents sur la membrane captureront le conjugué coloré. Des traits différents de couleurs seront visibles, dépendant du contenu en virus de l'échantillon. Ces traits seront utilisés pour interpréter le résultat.

Le mélange avance à travers la membrane jusqu'à la zone contrôle où se trouve l'anticorps immobilisé; donc une bande de couleur VERTE apparaîtra toujours. L'apparition de cette bande verte s'utilise pour : 1) vérifier que la quantité d'échantillon ajoutée a été suffisante, 2) que l'écoulement s'est produit correctement, 3) comme contrôle interne pour les réactifs.

CONDITIONS DE STOCKAGE

Le kit doit être conservé entre +2°C et +30°C. Le test est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur chaque sachet. Ne pas ouvrir jusqu'au moment de l'utilisation. Ne pas congeler.

PRÉCAUTIONS

- Uniquement pour usage professionnel in vitro
- Ne pas utiliser après la date de péremption
- Les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux et doivent être manipulés comme un agent infectieux
- Les tests doivent être jetés dans des containers de résidus sanitaires après utilisation

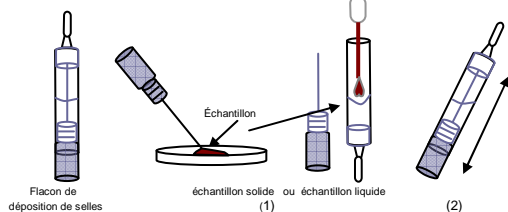
PRISE ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons de selles doivent être déposés dans des containers propres et l'analyse doit être effectuée immédiatement après la prise.

Les échantillons peuvent être conservés dans le réfrigérateur (entre 2 et 4°C) pendant 1 ou 2 jours avant le test. Pour une préservation prolongée, au maximum 1 année, les échantillons doivent être congelés et conservés à -20°C. Avant l'utilisation, l'échantillon doit être totalement décongelé et revenu à température ambiante.

Préparation de l'échantillon (voir illustration):

- (1) Dévisser le bouchon et utiliser le bâtonnet pour prendre un peu d'échantillon ou 100 µl des selles liquides. En cas d'échantillon liquide, il faut prendre 100 µL avec la pipette et introduire l'échantillon dans le flacon pour la dilution.
- (2) Fermer le flacon contenant le diluant et l'échantillon de selles. Agiter le flacon pour mettre les selles en suspension et assurer une bonne dispersion de l'échantillon.



MATÉRIAUX FOURNIS

- Dispositif de réaction
- Instructions d'utilisation
- Flacon de déposition de selles diluant

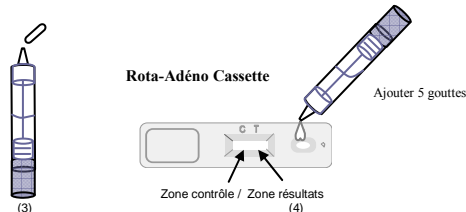
MATÉRIAUX NÉCESSAIRES-NON FOURNIS

- Un récipient de prise d'échantillon
- Éprouvettes
- Des gants jetables
- Un chronomètre

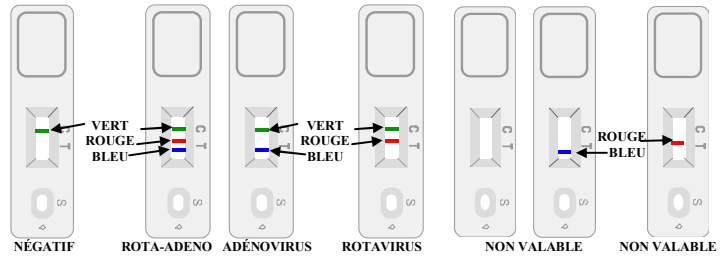
MODE OPÉRATOIRE

S'assurer que le test, les échantillons de selles et les contrôles sont à température ambiante (15°-30°C) avant d'effectuer le test. Ne pas ouvrir l'emballage jusqu'au moment où on est prêt pour effectuer l'analyse. Uniquement laisser atteindre la température ambiante le nombre de tests nécessaires pour l'analyse.

1. Agiter le flacon de déposition de selles afin d'assurer une bonne dispersion de l'échantillon. Couper le bout du flacon (3).
2. Retirer le test de sa poche protectrice justement avant leur utilisation. Ne pas employer le sachet desséchant.
3. Utiliser un nouveau flacon de déposition de selles et un nouveau dispositif (test) pour chaque échantillon ou contrôle. Ajouter 5 gouttes ou 150µL de l'échantillon sur la zone pour le prélèvement du dispositif de réaction (rond avec une flèche et une S).
4. Lire le résultat du test après 10 minutes sans autre manipulation.



INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS (VOIR ILLUSTRATION)



NÉGATIF: Une seule bande VERTE (ligne contrôle) apparaît dans la zone de test (zone contrôle) dans la fenêtre des résultats. Lettre C (ligne contrôle).

ROTAVIRUS POSITIF: À part la bande contrôle vert, il apparaît aussi une bande ROUGE (ligne résultat Rotavirus) dans la fenêtre des résultats (zone résultat). Lettre T

ADÉNOVIRUS POSITIF: À part la bande contrôle verte, il apparaît aussi une bande BLEUE (ligne de résultat Adénovirus) dans la fenêtre des résultats (zone résultat) lettre T

ROTAVIRUS-ADÉNOVIRUS POSITIF: Tous les lignes décrits ci-dessus (une bande VERTE contrôle dans la zone contrôle, une bande ROUGE et une bande BLEUE dans la zone résultat) peuvent apparaître au même temps pendant le test dû à une infection si simultanée de Rotavirus et Adénovirus.

NON VALABLE: si la bande contrôle (VERTE) est toute à fait absente, indépendamment de l'apparition de la bande du résultat (ROUGE/BLEUE). Les causes les plus courantes pour ce résultat sont : une quantité insuffisante d'échantillon, une procédure incorrecte ou une détérioration des réactifs. Si cela se produit, il faut réviser la procédure et refaire le test avec un nouveau test. Si le problème persiste, il faut contacter le fournisseur et abandonner l'utilisation du test.

OBSERVATIONS POUR L'INTERPRETATION DES RÉSULTATS

L'intensité de la couleur de la bande rouge ou bleue dans la zone de résultat du test varie en fonction de la concentration d'antigènes présents dans l'échantillon. Néanmoins ce test est qualitatif, en conséquence ni la quantité ni le taux d'augmentation d'antigènes peuvent être déterminés.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le contrôle interne du procès est inclus dans le test. La bande verte qui apparaît dans la zone contrôle (C) constitue le contrôle interne du test, vérifiant si le volume d'échantillon est suffisant et si la procédure suivie a été adéquate.

RESTRICTIONS

1. Ne plus utiliser le test une fois passé plus de 2 heures après l'ouverture de l'emballage scellé.
2. Un excès d'échantillon de selles peut être la cause d'un mauvais résultat (il apparaît une bande brune). Répétez le test.
3. Après une semaine d'infection, le taux de virus en selles diminue, ce qui rend l'échantillon moins réactif. L'échantillon de selles devrait être pris pendant la semaine qui suit aux premiers symptômes.
4. Ce test offre un diagnostic présomptif pour l'infection avec Rotavirus et/ou Adénovirus. Néanmoins un diagnostic d'infection ne doit être confirmé que par un médecin après l'évaluation de tous les tests cliniques et de laboratoire.

VALEURS ATTENDUES

Des résultats négatifs sont attendus pour les bébés et les enfants en bas âge sains, aussi pour des adultes sains.

CARACTÉRISTIQUES DU TEST

L'évaluation a été faite en comparant les résultats obtenus avec le CerTest Rota-Adéno Card avec ceux d'une autre analyse de Rotavirus-Adénovirus sur le marché.

Sensibilité

La détection de Rotavirus a démontré une concordance de > 99% en sensibilité.

La détection de Adénovirus a démontré une concordance de 90% en sensibilité.

Spécificité

La détection de Rotavirus a démontré une concordance de 98% en spécificité.

La détection de Adénovirus a démontré une concordance de > 99% en spécificité.

L'utilisation d'anticorps monoclonaux de souris dans l'élaboration du CerTest Rota-Adéno Card assure un haut degré de spécificité pour la détection de ces virus.

BIBLIOGRAPHIE

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", *Microbiological Reviews*, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179
2. ESTES, M. K. and COHEN, J., "Rotavirus Gene Structure and Function", *Microbiological Reviews*, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850
4. CUKOR, G., PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", *Journal of Clinical Microbiology*, Vol. 19, 888-892

SYMBOLES POUR RÉACTIFS ET PRODUITS POUR LE DIAGNOSTIQUE IN VITRO

