

ROTA-ADENO MonlabTest®

MO-076010 20 TESTS

Immunochromatographic test for the simultaneous detection of Rotavirus and Adenovirus in feces



For *in vitro* use only. Store at 2 - 30°C.

PRINCIPLE

The Rota-Adeno chromatographic immunoassay is a procedure for the *in vitro* qualitative detection of Rotavirus and Adenovirus antigens in human stool. The test is based on the immunological capture of colored microbeads during its passage along a membrane on which the monoclonal antibody has been immobilized. The Rota-Adeno MonlabTest uses a combination of 1) monoclonal antibodies against VP6 antigen of group A rotavirus, conjugated to red latex particles and specific monoclonal antibodies to rotavirus on the membrane. 2) monoclonal antibodies against adenovirus hexon antigen (present in all adenovirus subtypes), conjugated to blue latex particles and specific monoclonal antibodies to adenovirus on the membrane.

In this test, the sample is previously treated with a sample diluent to extract the rotavirus and adenovirus antigens present in the stool. After the extraction, the extract is simply added to the reaction device.

When the extract flows through the test membrane, the colored particles migrate. In the event of a positive result, specific antibodies on the membrane will capture the colored particles.

Depending on the virus content of the sample, different colored lines will be visible. These lines are used for interpretation of results, following five-minute incubation at room temperature.

INTENDED USE

Rotaviruses are the main cause of acute gastroenteritis, particularly in children under two years of age. Its discovery in 1973 and its association with child gastroenteritis represented a breakthrough in the study of gastroenteritis not due to acute bacterial infection. Transmission occurs through the fecal-oral route; the incubation period is between 1 and 3 days.

Adenoviruses are the second leading cause of viral gastroenteritis in children (10 -15%); they can also cause respiratory diseases and depending on the serotype, diarrhea, conjunctivitis, cystitis, and others. At least 47 adenovirus serotypes have been identified and in all of them the hexon antigen is present. Serotypes 40 and 41 are associated with gastroenteritis. The main clinical symptom of gastroenteritis caused by adenovirus is diarrhea, for 9 to 12 days, also occurring with fever and vomiting.

MATERIALS PROVIDED

- 20 cassettes
- 20 dilution buffer (1,5mL)
- Instructions for use

MATERIALS NOT INCLUDED IN THE KIT

- Test tubes
- Adjustable pipettes
- Pipette tips

PRECAUTIONS

1. Patient samples (stool) may contain infectious agents and must be handled and disposed of as potentially hazardous biological material.
2. Buffer contains sodium azide as an antimicrobial agent. Avoid direct contact with skin and mucous membranes. Dispose of appropriately. Do not use the buffer if signs of contamination or precipitation are present.
3. Do not eat, drink, smoke or prepare food in areas where reagents or samples are handled.
4. Wear disposable gloves when handling samples. Thoroughly wash the hands after finishing working.
5. Do not exchange components from one kit lot to another.
6. All reagents are for *in vitro* use exclusively.
7. Before use, allow kit components and samples to reach room temperature, as cold reagents and/or samples can reduce test functionality. Twenty to 30 minutes are recommended to reach room temperature.
8. Do not use kit components beyond their expiration date.
9. In case of package damage, the product may be used if none of its components has been damaged.
10. It is important to add the accurate sample amount (4-5 drops of suspension). If the amount is less than the required, the chromatography may not be completed as the sample doesn't reach the reaction area, if it is more, nonspecific lines may appear instead of red and blue lines.
11. Used product should be disposed of according to applicable laws.
12. Do not use the test if any colored lines appear in the result area before using the test.
13. It is very important to take the adequate stool amount: 30-50 mg of solid feces or $\approx 100 \mu\text{l}$ of liquid feces. **A sample excess prevents an adequate chromatography.**

STORAGE

The product can be stored at any temperature between 2 and 30°C. Its expiry date is printed on the envelope.

SAMPLES

Stool samples should be collected as soon as symptoms arise, before 8 days have elapsed. From this moment, the number of viral particles in stool decreases and they are less reactive.

Do not use samples collected in transport media or added with preservatives (such as formalin, SAF, PVA or similar) or enrichment media as their presence could interfere with the proper performance of the test.

The use of fresh untreated samples is highly recommended. Samples may be stored refrigerated (4°C approximately) for 1 or 2 days before their analysis. For a prolonged storage, samples must be frozen at -20°C without any previous preparation. If this occurs, samples should be completely thawed, brought to room temperature, and homogenized before the assay.

Pay special attention when analyzing hemorrhagic samples as they often give false positive results when the blood content is high. An indicator of this destabilization of the test is usually the alteration of the color in the bands.

PROCEDURE

1. Important: Take sample from three different sample sites at least, in order to get a sample as much representative as possible.
2. Unscrew the cap from the vial with caution in order not to spill the extraction buffer. With the end of the applicator **collect** a sufficient amount of stool (**30 - 50 mg**). If feces are liquid use a pipette to transfer 100 microliters into the vial.
3. Insert the applicator with the sample into the vial. Screw the cap well and **shake** vigorously to ensure a homogeneous mixture.
4. Remove the reaction device from the aluminium pouch. Discard the desiccant bag as it only serves to preserve the test from humidity and does not take part in test performance.
5. Break the top of the vial.
6. Add **4 or 5 drops** in the sample area of the reaction device (round window marked with an arrow). Do not add particulate matter with the liquid.
7. Wait **10 minutes**, read and interpret the results.

For samples with CARY BLAIR media:

- From DELTALAB (DeltaSwab Cary Blair): Add 1.5 mL of sample resuspended in Cary Blair medium to the vial with the sample dilution buffer included in the kit. Shake and continue with the procedure from point 5.
- From other sources (e.g. Thermofisher): Add 0.5 mL of sample resuspended in Cary Blair medium to the vial with the sample dilution buffer included in the kit. Shake and continue with the procedure from point 5

READING OF RESULTS

NEGATIVE: A single **GREEN** line appears in the results area, aligned with the letter "C" (control) marked on the casing. This line should always appear.

POSITIVE:

Rotavirus: A **GREEN** line and a second **PINK/RED** line appear in the results area, aligned with the legend "T2" (test) marked on the casing. Color intensity may vary depending on the antigen concentration present in the sample.

Adenovirus: A **GREEN** line and a second **BLUE** line appear in the results area, aligned with the legend "T1" (test) marked on the casing. Color intensity may vary depending on the antigen concentration present in the sample.

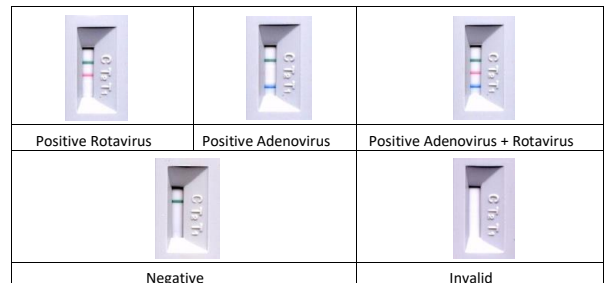
Rotavirus/Adenovirus: A **GREEN** line, a **RED** line, and a **BLUE** line appear in the results area, aligned with the legends "C", "T2" and "T1" (test) marked on the casing.

INVALID: If no green line appears, the test will be invalid due to inadequate procedure, reagent damage, or addition of improper sample amount. Repeat the test using a new reaction device.

Sometimes, in rare occasions, when testing different matrix samples, nonspecific lines have been detected, what indicates a destabilization of the test. It is a situation whose incidence has been considered when reporting test parameters. In this case the result has to be considered invalid, and it is advisable to repeat the assay with an alternative technique.

Any line that appears beyond 10 minutes because of the nature of the sample, is of no diagnostic value.

Interpretation code for the images on the strip.



NOTE: The indicative letters located in the plastic device work as a guide and help to the interpretation of the test. The test line may not exactly match with such mark.

Final diagnosis should not be based exclusively on a single test result. It should be based on the consistency of test results with other applicable data and the clinical symptoms.

QUALITY CONTROL

If no green line appears the test is invalid, due to either inadequate performance or to reagent deterioration. In this case, repeat the test strictly adhering to the working protocol outlined in this instruction sheet.

WARNING: The inclusion of a control with known results is recommended to ensure that the data obtained are correct.



LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

- The test should only be used for the detection of Rotavirus and Adenovirus antigens in feces.
- The test is qualitative, and no quantitative interpretation of results should be made, relating to positive line intensity.
- Several hundred samples were assessed to ensure proper test performance. The correlation of results with other techniques (ELISA) was excellent. However, interferences in test performance cannot be ruled out.
- A sample excess may result in the appearance of lines of indefinite color, instead of red and blue lines, or the test and control lines may not appear due to an inadequate chromatography. The brown lines have no diagnostic value. In this event, the test must be repeated with a lower sample amount or by diluting the prepared extract.
- No cross-reaction with other viruses or substances has been observed during test evaluation. A negative result does not preclude a potential Rotavirus or Adenovirus infection. The significance of results must be assessed in connection with patient clinical symptoms.
- The analysis of some samples may lead to the occurrence of indefinite color nonspecific bands, caused in most cases by negative samples. When these lines of indefinite color appear, the test must be repeated. In the event the same result is obtained, the analysis by other analytical method is recommended. There are different reasons for this kind of problem; among them, the most common ones are the presence of blood in the stool sample, using samples from patients with anti-antibodies or, also too high sample concentration. Therefore, it is recommended to use samples free of blood and pay attention to these points.
- The test may lead to positive results in feces from patients to whom the oral solution RotaTeq vaccine has been administered until 15 days before the administration.

SENSITIVITY AND SPECIFICITY

From diverse assays with several observers in different conditions and with different lots, we have established a typical sensitivity of 31 ng/mL for rotavirus and 31 ng/mL for adenovirus, although amounts of 8 ng/mL for rotavirus and 4 ng/mL for adenovirus may be detected at 10 minutes.

DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

A product of the technique is taken as reference test ELISAs for the detection of each antigen, approved in the Japanese market. Therefore, the results of the evaluation are as follows:

		rota-Adeno MonlabTest	
		+	-
ELISA	+	94	1
	-	12	307

Concordance percentage: 100% [(94+307)/414] = 96.9%.

Positive concordance: 100% [94 / (94+1)] = 98.9%.

Negative concordance: 100% [307 / (307+12)] = 96.2%.

Sensitivity concordance estimation-PPV: 100% [94 / (94+12)] = 88.7%.

Specificity concordance estimation-NPV: 100% [307 / (307+1)] = 99.7%

A product of the technique is taken as reference test ELISAs for the detection of each antigen, approved in the Japanese market. Therefore, the results of the evaluation are as follows:

		rota-Adeno MonlabTest	
		+	-
ELISA	+	47	1
	-	6	360

Concordance percentage: 100% [(47+360)/414] = 98.3%.

Positive concordance: 100% [47 / (47+1)] = 97.9%.

Negative concordance: 100% [360 / (360+6)] = 96.2%.

Sensitivity concordance estimation-PPV: 100% [47 / (47+6)] = 88.7%.

Specificity concordance estimation-NPV: 100% [360 / (360+1)] = 99.7%

REPEATABILITY

Three duplicates of each concentration from the sensitivity curve are tested using three different lots and the same results are obtained.

REPRODUCIBILITY

INTER-DAY PRECISION: Using 1 lot of the product, ten duplicates of the sensitivity curve are performed throughout ten consecutive days. Only a difference of one ½ dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

INTER-LAB PRECISION: Three different laboratories-operators test those same samples, presenting high precision and concordance. Only a difference of one ½ dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

INTER-LOT PRECISION: Using 3 different lots of the product, a sensitivity curve is constructed in duplicate. The analysis is performed by the same person in the same day. Only a difference of one 1/2 dilution is observed, acceptable and tolerable for the assay.

HOOK EFFECT

No hook effect has been observed at a concentration equivalent to 65 times (2000 ng/mL) the limit of the test (31 ng/mL Rota + 31 ng/mL Adeno).

INTERFERING SUBSTANCES

The substances listed in the table, at the indicated concentration, didn't interfere with the results. Three lots were used for the study.

Substance	Initial concentration	Substance	Initial concentration
Bilirubin F	0,9 – 1,1 mg/mL	Atropine	(40 mg/dL)
Bilirubin C	0,9 – 1,1 mg/mL	Caffeine	(40 ng/dL)
Hemoglobin	22 – 27 mg/mL	Gentisic acid	(40 mg/dL)
Acetaminophen	(20 mg/dL)	Urea	(4.000 mg/dL)
Acetylsalicylic acid	(20 mg/dL)	Uric acid	(10 mg/dL)
Ampicillin	(40 mg/dL)	Ascorbic acid	(100 mg/dL)
Glucose	(2.000 mg/dL)		

INTERFERING MICROORGANISMS

The microorganisms listed, at the indicated concentration, did not interfere with the results.

Bacteria

Concentration (McF: 5(1x10⁸/mL)

<i>E.coli</i>	Groupe G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Groupe B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.millieri</i>
Groupe C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Subtype	Final concentration TCID ₅₀ /mL
Influenza type A	H1N1	1.4x10 ⁶
Influenza type A	H3N2	3.0x10 ⁶
Influenza type B	Victoria	1.6x10 ⁶
Influenza type B	Yamagata	1.5x10 ⁷

Virus-2

Virus	Subtype	Final concentration TCID ₅₀ /mL
Echovirus	6	7.2x10 ⁵
Poliovirus	2	2.2x10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2x10 ⁷

REFERENCES

- F. Bon et al. *Prevalence of a group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France.* Journal of Clinical Microbiology, Sept. 1999, p. 3055-3058
- Bodo R. Eing et al. *Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of human rotaviruses in fecal specimens,* Journal of Clinical Microbiology, Dec. 2001, p. 4532-4534
- Umesh D. Parashar et al. *Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children,* Emerging Infectious Diseases, vol. 9, No.5, May 2003, p. 565-572

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS



Manufactured by



For in vitro diagnostic use



Do not re-use



Please read pack insert



Contains sufficient for <n> tests



Dry storage



Catalogue number



Store at



Lot number



Expiry date



This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices



Dilution buffer



ROTA-ADENO MonlabTest® MO-076010 20 TESTS

Test rápido para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*. Conservar a 2 - 30°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El inmunoensayo cromatográfico Rota-Adeno es un procedimiento para la detección cualitativa *in vitro* de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en la materia fecal humana. El test está basado en la captura inmunológica de micropartículas coloreadas durante su paso a través de una membrana sobre la que se ha inmovilizado el anticuerpo monoclonal. El test Rota-Adeno utiliza una combinación de: 1) anticuerpos monoclonales contra el antígeno VP6 del grupo A de rotavirus, conjugados a partículas de látex rojas, y anticuerpos monoclonales específicos para rotavirus en la membrana. 2) anticuerpos monoclonales contra el antígeno hexon de adenovirus (presente en todos los subtipos de adenovirus), conjugados a partículas de látex azules y anticuerpos monoclonales específicos para adenovirus en la membrana.

En este test la muestra se trata primero con un diluyente de muestra para extraer los antígenos de rotavirus y adenovirus de las heces. Tras la extracción, solo se necesita poner el extracto en el dispositivo de reacción. Cuando el extracto de la muestra fluye a través de la membrana del test, las partículas coloreadas migran. En el caso de un resultado positivo los anticuerpos específicos, presentes en la membrana, capturarán las partículas coloreadas.

Diferentes líneas de color serán visibles, dependiendo del contenido de virus en la muestra. Estas líneas se usan para interpretar el resultado, a los cinco minutos de incubación a temperatura ambiente.

SIGNIFICADO CLÍNICO

Los rotavirus son la principal causa de gastroenteritis agudas, especialmente en niños menores de dos años. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantiles, representó un avance muy importante en el estudio de gastroenteritis no causadas por infección bacteriana aguda. Su transmisión tiene lugar por vía oral-fecal, siendo el periodo de incubación entre 1 y 3 tres días.

Los adenovirus son la segunda causa de gastroenteritis virales en niños (10 -15 %) Además pueden causar enfermedades respiratorias y dependiendo del serotipo, diarrea, conjuntivitis, cistitis y otras. Se han identificado al menos 47 serotipos de adenovirus y en todos está presente el antígeno hexon. Los serotipos 40 y 41 son los asociados a la gastroenteritis. El principal síntoma clínico de las gastroenteritis debidas a adenovirus es la diarrea, entre 9 y 12 días, apareciendo también fiebre y vómitos.

MATERIAL SUMINISTRADO

- 20 casetes
- 20 viales con diluyente (1,5mL)
- Instrucciones de uso

MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO

- Tubos de ensayo
- Pipetas graduables
- Puntas de pipetas

PRECAUCIONES

- Las muestras de los pacientes (heces) pueden contener agentes infecciosos y deberán ser tratadas y desechadas como materiales biológicos potencialmente peligrosos.
- El tampón contiene azida de sodio como agente antimicrobiano. Evitar el contacto directo con la piel y las mucosas. Desechar de forma apropiada. No usar el tampón si manifiesta indicios de contaminación o precipitación.
- No comer, beber, fumar, almacenar o preparar alimentos en la zona donde se manejan los reactivos y las muestras.
- Llevar guantes desechables al manejar las muestras. Lavarse bien las manos al acabar de trabajar.
- No intercambiar los componentes de kits con distinto número de lote.
- Utilizar todos los reactivos únicamente *in vitro*.
- Antes de usarlos, dejar que todos los componentes del kit y muestras alcancen la temperatura ambiente, pues reactivos y/o muestras frías pueden reducir la funcionalidad del test. Se recomiendan de 20 a 30 minutos para alcanzar la temperatura ambiente.
- No usar los componentes del kit después de las fechas de caducidad.
- En caso de rotura del envase, el producto puede ser utilizado si ninguno de los componentes ha sido dañado.
- Es importante añadir la cantidad correcta de muestra (4-5 gotas de suspensión). Si es inferior a la indicada puede ser que no se realice la cromatografía porque no llegue muestra a la zona de reacción, si es superior pueden aparecer líneas inespecíficas en vez de rojas y azules.
- El producto usado debe desecharse conforme a la legislación vigente.
- No usar el test si aparece alguna línea de color en la zona de resultados antes de empezar a usarlo.
- Es importante tomar la cantidad de hez adecuada: 30-50 mg de heces sólidas o \approx 100 μ l de heces líquidas. Un exceso de muestra impide la correcta cromatografía.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Se puede conservar a cualquier temperatura comprendida entre 2 y 30°C. Su fecha de caducidad está impresa en la envoltura.

MUESTRAS

La muestra de heces debe tomarse en cuanto aparezcan los síntomas, antes de pasados 8 días. A partir de ese momento, el número de partículas víricas en heces decrece y son menos reactivas.

No usar muestras que hayan sido recogidas en medios de transporte o se les hayan añadido agentes de conservación (como formalina, SAF, PVA o similares) o medios de enriquecimiento ya que su presencia podría interferir con la correcta ejecución del test. Se recomienda analizar muestras frescas sin tratar. Las muestras pueden guardarse en el refrigerador (4°C aproximadamente.) durante 1 o 2 días antes de ser analizadas. Para una conservación más prolongada, deben guardarse en el congelador a -20°C sin manipulación previa. En este caso, la muestra será descongelada totalmente, llevada a temperatura ambiente y homogeneizada antes de analizarla.

Prestar especial atención cuando se analicen muestras hemorrágicas pues suelen dar problemas de inespecificidad cuando el contenido en sangre es elevado. Un indicio de esta inestabilización del test suele ser la alteración del color de las bandas.

PROCEDIMIENTO

- Importante:** Tomar hez de al menos tres sitios diferentes de la muestra con el fin de obtener una muestra lo más representativa posible.
- Desenroscar el tapón del vial con cuidado de no derramar el tampón de extracción. Con el extremo del aplicador tomar una cantidad suficiente de heces (30 – 50 mg). Si las heces son líquidas coger con ayuda de una pipeta 100 microlitros y transferirlos al vial.
- Introducir el aplicador con la muestra en el vial. Enroscar bien el tapón y agitar vigorosamente para asegurar una mezcla homogénea.
- Sacar el dispositivo de reacción de la bolsa de aluminio. Desechar la bolsita de desecante puesto que sólo sirve para preservar el test de la humedad y no se emplea en la realización del test.
- Romper el extremo superior del vial.
- Añadir 4 o 5 gotas en la zona para la muestra del dispositivo de reacción (ventana circular señalada con una flecha). No añadir partículas sólidas con el líquido.
- Esperar **10 minutos**, leer e interpretar el resultado.

Para muestras con medios *CARY BLAIR*:

- De DELTALAB (DeltaSwab Cary Blair): Añadir 1,5 mL de muestra resuspendida en el medio *Cary Blair* al vial con el tampón de dilución de la muestra incluido en el kit. Agitar y continuar con el procedimiento a partir de punto 5.
- De otras fuentes con proporción 5 g muestra:20 mL medio *Cary Blair* (p.e. Thermofisher): Añadir 0,5 mL de muestra resuspendida en el medio *Cary Blair* al vial con el tampón de dilución de la muestra incluido en el kit. Agitar y continuar con el procedimiento a partir de punto 5.

LECTURA E INTERPRETACIÓN

NEGATIVO: Aparece una sola línea VERDE en la zona de resultados, alineada con la letra "C" (control) marcada en la carcasa. Siempre debe aparecer esta línea.

POSITIVO:

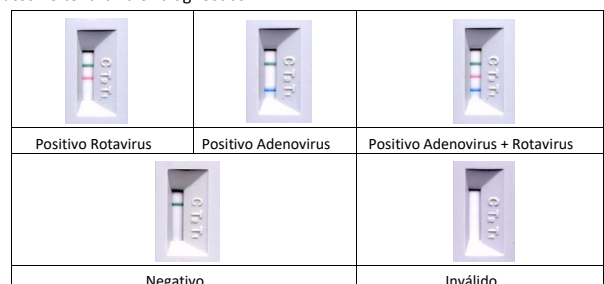
Rotavirus: Aparecen una línea VERDE y otra ROJA/ROSA en la zona de resultados, alineada con la letra "T2" (test) marcada en la carcasa. La intensidad puede variar según la concentración presente de antígeno.

Adenovirus: Aparecen una línea VERDE y otra AZUL en la zona de resultados, alineada con la letra "T1" (test) marcada en la carcasa. La intensidad puede variar según la concentración presente de antígeno.

Rotavirus/Adenovirus: Aparecen una línea VERDE, una ROJA y otra AZUL en la zona de resultados, alineadas con la letra "C", "T2" y "T1" (test) marcada en la carcasa.

INVÁLIDO: Si no aparece la línea verde, el test será inválido porque no se ha procedido correctamente, porque los reactivos se han deteriorado o por haber añadido una cantidad incorrecta de muestra. Repita el test con un nuevo dispositivo de reacción.

En ocasiones aisladas, testando diferentes matrices, se ha detectado la aparición de líneas inespecíficas, lo que denota una inestabilización del test. Es un episodio cuya incidencia se encuentra contemplada dentro de los parámetros mostrados para el test. En este caso el resultado se considera inválido, y es aconsejable el uso de una técnica alternativa. Toda línea que por la naturaleza de la muestra pueda aparecer pasados 10 minutos no tendrá valor diagnóstico.



NOTA: Las letras indicativas situadas en la carcasa de plástico funcionan como guía y ayuda a la interpretación. La línea del test puede no coincidir exactamente con dicha marca.



El diagnóstico final no se debe basar sólo en el resultado de un test. Se deberá fundamentar en la correlación de los resultados del test con otros datos adecuados y con la sintomatología clínica.

CONTROL DE CALIDAD

Si no aparece ninguna línea verde el test es inválido, ya sea porque se realizó incorrectamente o por que los reactivos se han deteriorado. En este caso, repetir el análisis ciñéndose estrictamente al protocolo de trabajo detallado en estas hojas de instrucciones.

ADVERTENCIA: Se recomienda la inclusión de un control de resultado conocido para asegurar que los datos obtenidos son correctos.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

- El test debe usarse solo para la detección de antígenos de Rotavirus y Adenovirus en heces.
- El test es cualitativo y no debe hacerse ninguna interpretación cuantitativa del resultado en relación directa a la intensidad de la línea positiva.
- Varios cientos de muestras fueron evaluadas para asegurar el correcto funcionamiento del test. La correlación de resultados con otras técnicas (ELISA) fue excelente. Sin embargo, no se deben excluir interferencias en el funcionamiento del test.
- Con un exceso de muestra pueden aparecer líneas de color indefinido en vez de rojas y azules, o bien no aparecer las líneas test y control al no poder cromatografiar correctamente. Las líneas marrones no tienen ningún valor diagnóstico. En este caso se debe repetir el test con una cantidad menor de muestra o diluir el extracto ya hecho.
- No se ha observado ninguna reacción cruzada con otros virus o sustancias durante la evaluación del test. Un resultado negativo no excluye totalmente una posible infección por Rotavirus o Adenovirus. La importancia de los resultados debe ser evaluada con relación a los síntomas clínicos del paciente.
- El análisis de algunas muestras puede dar líneas inespecíficas con colores indefinidos, causados en la mayoría de los casos por muestras negativas. Cuando aparezcan estas líneas de coloración indefinida, debe repetirse el test. En el caso de obtenerse el mismo resultado se sugiere realizar el análisis con otro método analítico. Existen diferentes razones para la aparición de estos problemas, entre ellas, las más comunes son: la presencia de sangre en la muestra de hez, muestras de pacientes con anti-anticuerpos o también, una concentración elevada de muestra. Por lo tanto, es recomendable utilizar muestras libres de sangre y prestar atención a estos puntos.
- El test puede presentar resultados positivos en heces de individuos sanos a los que se les ha administrado la vacuna RotaTaq solución oral hasta unos 15 días después de la administración de la misma.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

A partir de multitud de ensayos con varios observadores en diferentes condiciones y con lotes distintos hemos establecido una sensibilidad típica de 31 ng/mL para rotavirus y 31 ng/mL para adenovirus si bien se llegan a detectar cantidades de 8 ng/mL para rotavirus y 4 ng/mL para adenovirus a los 10 min.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

Se toma como test de referencia un producto de la técnica ELISA aprobado en el mercado japonés. De este modo los resultados de la evaluación son los siguientes:

		rota-Adeno MonlabTest	
		+	-
ELISA	+	94	1
	-	12	307

Porcentaje concordancia: 100% [(94+307)/414] = 96,9%.

Concordancia positivos: 100% [94 / (94+1)] = 98,9%.

Concordancia negativos: 100% [307 / (307+12)] = 96,2%.

Concordancia sensibilidad estimada-VPP: 100% [94 / (94+12)] = 88,7%.

Concordancia especificidad estimada-VPN: 100% [307 / (307+1)] = 99,7%

Se toma como test de referencia un producto de la técnica ELISA aprobado en el mercado japonés. De este modo los resultados de la evaluación son los siguientes:

		rota-Adeno MonlabTest	
		+	-
ELISA	+	47	1
	-	6	360

Porcentaje concordancia: 100% [(47+360)/414] = 98,3%.

Concordancia positivos: 100% [47 / (47+1)] = 97,9%.

Concordancia negativos: 100% [360 / (360+6)] = 96,2%.

Concordancia sensibilidad estimada-VPP: 100% [47 / (47+6)] = 88,7%.

Concordancia especificidad estimada-VPN: 100% [360 / (360+1)] = 99,7%

REPETIBILIDAD

Se ensayan tres réplicas de cada concentración de la curva de sensibilidad con tres lotes distintos y se obtienen los mismos resultados.

REPRODUCIBILIDAD

PRECISIÓN INTERDÍA: Con 1 lote de producto, se realizan diez réplicas de la curva de sensibilidad a lo largo de diez días consecutivos. Sólo se aprecia una diferencia de una dilución ½, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

PRECISIÓN INTERLABORATORIO: Tres laboratorios-operadores distintos ensayan esas mismas muestras manteniendo precisiones y concordancias elevadas. Sólo se aprecia una diferencia de una dilución ½, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

PRECISIÓN INTERLOTE: Con 3 lotes de producto se realiza una curva de sensibilidad por duplicado. El análisis lo realiza una persona y en el mismo día. Sólo se aprecia una diferencia de una dilución 1/2, asumible y tolerable por el ensayo realizado.

EFFECTO HOOK

No se ha observado efecto Hook en una concentración 65 veces (2000 ng/mL) superior al límite del test (31 ng/mL Rota + 31 ng/mL Adeno).

INTERFERENCIAS

Las sustancias descritas en la tabla, y a la concentración indicada no dieron lugar a interferencia en el resultado. Se utilizaron tres lotes para realizar el estudio.

Sustancia	Concentración inicial	Sustancia	Concentración inicial
Bilirrubina F	0,9 – 1,1 mg/mL	Atropina	(40 mg/dL)
Bilirrubina C	0,9 – 1,1 mg/mL	Cafeína	(40 ng/dL)
Hemoglobina	22 – 27 mg/mL	Ácido Gentísico	(40 mg/dL)
Acetamidofeno	(20 mg/dL)	Urea	(4.000 mg/dL)
Ácido Acetilsalicílico	(20 mg/dL)	Ácido úrico	(10 mg/dL)
Ampicilina	(40 mg/dL)	Ácido Ascórbico	(100 mg/dL)
Glucosa	(2.000 mg/dL)		

MICROORGANISMOS INTERFERENTES

Los microorganismos indicados, a la concentración descrita no dieron lugar a interferencia en el resultado.

Bacterias

Concentración (McF: 5(1x10⁸/mL))

<i>E.coli</i>	Groupe G Strep	<i>H.influenzae</i>
<i>K.pneumoniae</i>	<i>S.agalactiae</i>	<i>C.albicans</i>
<i>E.faecalis</i>	<i>S.mutans</i>	<i>B.catarrhalis</i>
<i>S.aureus</i>	<i>S.pneumoniae</i>	<i>B.pertussis</i>
<i>S.epidermidis</i>	<i>S.marcescens</i>	<i>P.vulgaris</i>
<i>S.haemolyticus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Groupe B Strep	<i>N.gonorrhoeae</i>	<i>S.millieri</i>
Groupe C Strep		<i>E.faecium</i>

Virus-1

Virus	Subtipo	Concentración final (TCID ₅₀ /mL)
Influenza type A	H1N1	1.4x10 ⁶
Influenza type A	H3N2	3.0x10 ⁶
Influenza type B	Victoria	1.6x10 ⁶
Influenza type B	Yamagata	1.5x10 ⁷













Virus-2

Virus	Subtipo	Concentración final (TCID ₅₀ /mL)
Echovirus	6	7.2x10 ⁵
Poliovirus	2	2.2x10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2x10 ⁷

BIBLIOGRAFÍA

- F. Bon et al. *Prevalence of a group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France.* Journal of Clinical Microbiology, Sept. 1999, p. 3055-3058
- Bodo R. Eing et al. *Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of human rotaviruses in fecal specimens,* Journal of Clinical Microbiology, Dec. 2001, p. 4532-4534
- Umeh D. Parashar et al. *Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children,* Emerging Infectious Diseases, vol. 9, No.5, May 2003, p. 565-572

PRESENTACIÓN SÍMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		IVD	Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar			Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> ensayos			Mantener seco
	Código			Límite de temperatura
	Número de lote			Fecha de caducidad
	Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico <i>in vitro</i>		DIL	Tampón de dilución

