

Willi Fox

Rota-Adenovirus Combo

Stuhltest

Testanleitung (IFU)

Schnelltest zum Nachweis von Rota- und Adenoviren in humanen Stuhlproben

1. Anwendungsbereich

Der *Willi Fox* – Rota-Adenovirus Combo Schnelltest ist ein visueller Ein-Stufen-Immunoassay für den raschen qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren in humanen Stuhlproben. Dieser Test dient als Hilfsmittel zur Diagnose einer Rotavirus- und Adenovirusinfektion.

Rotaviren sind die häufigste Ursache für akute Gastroenteritis, insbesondere bei kleineren Kindern. Ihre Entdeckung und die Beschreibung des Zusammenhangs mit der Gastroenteritis bei Kleinkindern im Jahr 1973 stellte einen wichtigen Fortschritt für die Untersuchung nicht bakteriell verursachter Gastroenteritiden dar. Rotaviren werden in der Regel oral-fäkal übertragen. Die Inkubationszeit beträgt 1-3 Tage. Auch wenn Stuhlproben, die während des zweiten bis fünften Tages nach Krankheitsausbruch entnommen werden, für den Antigennachweis besonders geeignet sind, sind Rotaviren immer noch nachweisbar, solange der Durchfall anhält. Rotavirusinfektionen bei Risikogruppen wie Säuglinge, ältere Menschen oder immun-geschwächten Personen können zum Tod führen. In den gemäßigten Klimazonen treten Rotavirusinfektionen hauptsächlich während der Wintermonate auf. Sowohl Endemien als auch Epidemien mit einigen tausend Betroffenen wurden beobachtet. Bei ca. 50% der Kinder, die mit einer akuten Gastroenteritis stationär behandelt wurden, konnten Rotaviren nachgewiesen werden. Die Viren replizieren sich im Zellkern und rufen einen charakteristischen cytopathischen Effekt (CPE) hervor. Da Rotaviren in Zellkulturen extrem schwer zu züchten sind, ist eine Isolierung des Virus für diagnostische Zwecke unüblich. Stattdessen wurden verschiedene andere Techniken entwickelt, die einen Nachweis von Rotaviren in Stuhlproben ermöglichen.

Enterale **Adenoviren** (wie Ad40 und Ad41) verursachen bei Kindern nach den Rotaviren am häufigsten Durchfallerkrankungen, wie die Forschung gezeigt hat. Akute Durchfallerkrankungen bei Kleinkindern sind eine der Hauptursachen für Morbidität weltweit und eine der häufigsten Ursachen für Sterblichkeit in Entwicklungsländern. Diese viralen Pathogene wurden in der ganzen Welt identifiziert und können ganzjährig Durchfallerkrankungen bei Kindern verursachen. Am häufigsten treten Infektionen bei Kindern unter zwei Jahren auf, es können jedoch Patienten jeder Altersgrup-

pe betroffen sein. Weitere Studien haben gezeigt, dass Adenoviren bei ca. 4-15% aller hospitalisierten Fällen von viralen Gastroenteritiden im Zusammenhang stehen. Eine schnelle und genaue Diagnose von Adenoviren bei Gastroenteritis ist für die Aufklärung der Krankheitsursache und deren Patientenmanagement hilfreich. Andere diagnostische Methoden wie Elektronenmikroskopie (EM) oder Nukleinsäuren-hybridisierung sind teuer und arbeitsintensiv. Da Adenovirusinfektionen in der Regel selbstlimitierend verlaufen, sind derart aufwändige Untersuchungen meist nicht erforderlich.

2. Zusammenfassung des Testprinzips

Der **Willi Fox** – Rota-Adenovirus Combo Test ist für den qualitativen Nachweis von Rotaviren und Adenoviren durch visuelle Interpretation der Farbentwicklung im internen Streifen bestimmt.

Der Test weist Rotaviren bzw. Adenoviren mit Hilfe spezifischer Antikörper nach. Dabei wurde die Membrane mit immobilisierten anti-Rotavirus und anti-Adenovirus Antikörpern in der Testregion der Kassette beschichtet.

Nach Zugabe der Probe (in Puffer verdünnter Stuhl) binden farbmarkierte (Goldkonjugat) Antikörper spezifisch an das jeweilige Virus, wenn es in der Probe vorliegt. Durch Kapillarkraft wandern die Virus-Antikörper-Komplexe die Membran entlang. Dort reagieren sie mit Hilfe weiterer spezifischer Antikörper gegen Rotavirus bzw. Adenovirus in den entsprechenden Testlinienbereichen. Liegen genug Rotaviren in der Probe vor, bildet sich eine rote Testlinie im Testfeld auf Höhe des Buchstaben „R“. Liegen genug Adenoviren vor, erscheint eine rote Testlinie im Testfeld auf Höhe des Buchstaben „A“. Sind von beiden Viren genügend vorhanden (Mischinfektion), erscheinen beide Linien. Liegen keine Rota- oder Adenoviren in der Stuhlprobe vor, werden keine roten Linien gebildet, weil die farbmarkierten Antikörper an die viruspezifischen Antikörper in den Testlinienbereichen nicht binden können.

Die Anwesenheit einer roten Testlinie zeigt also ein positives Testergebnis an, das Fehlen einer Testlinie ein negatives.

Als Kontrolle für eine korrekte Testdurchführung muss in der Kontrollregion C immer eine rote Linie erscheinen. Diese zeigt an, dass das Probenvolumen ausreichend war und eine vollständige Benetzung der Membran mit der Flüssigkeit stattgefunden hat.

3. Inhalt der Testpackung

- | | |
|---|---|
| • Testkassetten, einzeln in Folienbeutel verschweisst | Jeweils mit einem Trockenmittel – <i>Das Trockenmittel ist kein Testbestandteil, bitte in den Abfall geben!</i> |
| • Pipette | Für den Patienten |
| • Probensammelröhrchen mit Puffer | Für den Patienten |
| • Stuhlfänger | Für den Patienten |
| • Plastikbeutel | Für den Patienten |
| • Testanleitung Stuhlentnahme | Für den Patienten |
| • Testanleitung | Gebrauchsanweisung |

4. Zusätzlich benötigtes Material (nicht mitgeliefert)

- Saugfähiges Papier, um Verspritzen der Lösungen zu vermeiden
- Einweghandschuhe
- (Stopp)uhr

5. Lagerung und Haltbarkeit

- Die **Willi Fox** – Rota-Adenovirus Test Combo Schnelltests können im verschlossenen Beutel bei Raumtemperatur (2-30°C) bis zum angegebenen Verfallsdatum aufbewahrt werden.
- Nicht einfrieren!
- Bitte achten Sie sorgsam darauf, dass Sie beim Verwenden die einzelnen Testkomponenten nicht kontaminieren. Die biologische Kontaminierung von den einzelnen Komponenten wie Kapillarpipetten oder Reagenzien kann zu falschen Ergebnissen führen!

6. Wichtige Hinweise

- *Nur zur Anwendung als in vitro Diagnostikum durch Fachpersonal.*
- *Die Testkassette muss bis zum Gebrauch in der versiegelten Folienverpackung bleiben.*
- *Test nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.*
- *Test nicht verwenden, wenn Folienverpackung beschädigt ist.*
- *Nur zum Einmalgebrauch.*
- *Lesen Sie vor Ausführung des Tests die Testanleitung genau durch.*
- *Die Tests enthalten tierische Produkte. Auch wenn die Tiere und Ihr Gesundheitszustand zertifiziert werden, kann nie das Vorhandensein eines übertragbaren Erregers völlig ausgeschlossen werden. Deshalb empfehlen wir das Produkt als potentiell infektiös zu behandeln. Standardrichtlinien zum Umgang mit infektiösen Material und chemischen Reagenzien sind bei allen Handhabungen zu beachten.*
- *Der Puffer enthält Natriumazid, das mit Blei oder Kupfer eventuell explosive Metallazide bilden kann. Spülen Sie bei der Entsorgung von Puffer über den Abfluss immer mit reichlich Wasser nach, um eine Azidbildung zu verhindern.*
- *Alle kontaminierten Abfälle wie Testkassetten und Extrakte sind ordnungsgemäss zu entsorgen.*
- *Besteht der Verdacht, eine Probe könnte falsch gekennzeichnet, kontaminiert oder verdorben sein, sollte eine neue Probe genommen werden.*

- *Test umgehend (innerhalb höchstens einer Stunde) nach Öffnung der Folienverpackung verwenden.*
- *Bitte beachten Sie die angegebenen Auswertungszeiten.*
- *Luftfeuchtigkeit und die Umgebungstemperatur kann das Testergebnis beeinflussen.*

7. Probegewinnung und Vorbehandlung

Grundsätzliches:

- **Willi Fox** – Rota-Adenovirus Combo Test ist nur für den Gebrauch mit menschlichen Stuhlproben gedacht.
- Den besten Virusnachweis gelingt, wenn die Probe kurz nach dem Einsetzen der Krankheitssymptome genommen wird.
- Die **maximale Ausscheidung von Rotaviren** im Stuhl von Patienten mit Gastroenteritis erfolgt **3-5 Tage** nach Einsetzen der Krankheitssymptome.
- Bei **Adenoviren ist die maximale Ausscheidung zwischen dem 3. und 13. Tag** nach Krankheitsausbruch am stärksten.
- Wenn Proben erst sehr spät nach Einsetzen von Durchfall gesammelt werden, ist es möglich, dass die Antigenmenge für eine positive Reaktion nicht ausreichend ist oder dass Antigene nachgewiesen werden, die nicht unmittelbar mit der Durchfallerkrankung im Zusammenhang stehen.
- Stuhlproben sollten sogleich nach dem Sammeln getestet werden. Lassen Sie die Proben nicht längere Zeit bei Raumtemperatur rumstehen.
- Stuhlproben dürfen sofort nach der Entnahme bei 2-8°C gelagert und müssen dann innerhalb von 72 Stunden untersucht werden.
- Oder sie können bei -20°C eingefroren und gelagert werden.
- Die Probe muss vor dem Testen unbedingt auf Raumtemperatur gebracht werden.
- Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate zu vermeiden.

Probennahme und Aufbereitung durch den Patienten:

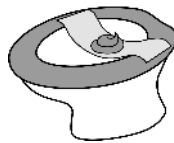
Für die Probennahme erhält der Patient ein Probenahmeröhrchen (Puffer), ein Plastikbeutel, eine Patiententestanleitung und eine Einwegpipette.

Bitte weisen Sie den Patienten an, die Stuhlprobe wie folgt zu entnehmen:

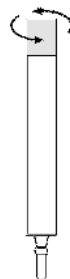
- Bei festen Stuhlproben kann der mitgelieferte Stuhlfänger benutzt werden.
- Bei flüssigen Stuhlproben kann jeder saubere und trockene Behälter für das Sammeln der Probe verwendet werden.
- Bitte stellen Sie sicher, dass die Stuhlprobe nicht mit dem Wasser der Toilettenschüssel in Berührung kommt, um eine Verdünnung der Stuhlprobe oder eine Verunreinigung mit z.B. Reinigungsmitteln zu vermeiden.
- 1-2 ml bzw. 1-2 g Stuhl reichen aus.

Bei festen Stuhlproben:

- Sammeln Sie eine zufällige Stuhlprobe mit Hilfe des mitgelieferten Stuhlfängers.



- Schrauben Sie das Probensammelröhrchen auf und nehmen Sie den Applikator heraus. Achten Sie darauf, dass Sie keine Flüssigkeit aus dem Röhrchen verschütten oder verspritzen.



- Stechen Sie den Applikator an mindestens 3 verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe. Sammeln Sie so ca. 50 mg Stuhl. 50 mg entsprechen vom Volumen her ca. einer viertel Erbse.



- Stecken Sie den Applikator zurück in das Röhrchen, schrauben Sie die Kappe fest zu und schütteln Sie kurz. Achten Sie darauf, die Spitze des Probensammelröhrchens nicht abzubrechen.



- Schütteln Sie das Röhrchen damit sich die Stuhlprobe und der Puffer gut mischen. Bitte seien Sie vorsichtig, dass die Spitze des Röhrchens nicht abbricht.

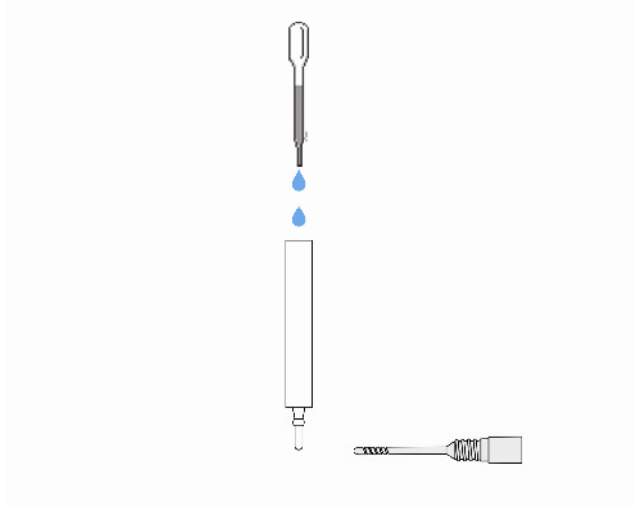


- Verschlussen Sie das Probensammelröhrchen im Plastikbeutel und geben Sie dieses beim Arzt ab.
- Die Probe ist nun bereit, um untersucht, aufbewahrt oder transportiert zu werden.
- Die Probe sollte so schnell wie möglich, aber spätestens **innerhalb einer Stunde** untersucht werden.
- Die vorbereitete Probe gelöst im Puffer des Probensammelröhrchens kann bei -20°C eingefroren und während 6 Monaten gelagert werden.

Bei flüssigen Stuhlproben:

Wenn der Stuhl zu dünnflüssig ist, um am Spiralstab hängen zu bleiben, verwenden Sie bitte die beigefügte Einwegpipette.

- Dazu halten sie die Pipette senkrecht, saugen Sie ein wenig Stuhl auf und geben Sie zwei Tropfen (ungefähr 50 µl) davon in das Probesammelröhrchen mit dem Verdünnungspuffer.



- Geben Sie den Spiralstab zurück ins Röhrchen und verschliessen Sie dieses fest.



- Schütteln Sie das Röhrchen damit sich die Stuhlprobe und der Puffer gut mischen. Bitte sind Sie vorsichtig, dass die Spitze des Röhrchens nicht abbricht.



Hinweis:

Fühlt sich der Patient bei der oben erklärten Durchführung nicht sicher, soll er die Probe in die Praxis bringen und das Einfügen der Probe in das Probesammelröhrchen sollte dann im Labor vom Fachpersonal durchgeführt werden.

8. Testdurchführung und Auswertung

Alle Tests, Proben, Puffer und/ oder Kontrollflüssigkeiten müssen vor Durchführung des Tests auf Raumtemperatur (15°C bis 30°C) gebracht werden.

Bitte keine gekühlten Tests öffnen, um eine Kondensation von Luftfeuchtigkeit auf der Testmembran zu vermeiden.

1. Beschriften Sie die Testkassette

Nehmen Sie die Testkassette aus dem Folienbeutel, versehen Sie sie mit der Kennzeichnung für den Patienten (oder der Kontrolle) und dem Datum und legen Sie sie auf eine waagerechte, saubere Unterlage.

Um beste Ergebnisse zu erzielen, sollten Sie den Test innerhalb einer Stunde nach dem Öffnen durchführen.

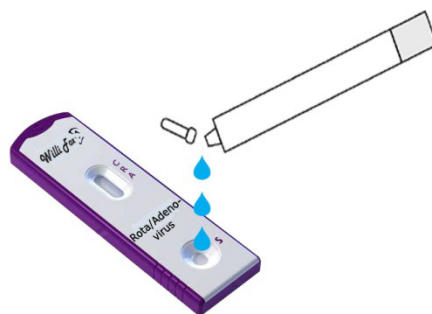
2. Schütteln Sie das Probensammelröhrchen gründlich

Dadurch wird eine einwandfreie Durchmischung der Stuhlprobe mit der Extraktionslösung sicher gestellt.



3. Schrauben Sie das Probensammelröhrchen an dem anderen Ende (weisse Kappe) auf

Brechen Sie die Spitze des Probensammelröhrchens mit Hilfe eines saugfähigen Papiers durch eine Drehbewegung ab. Geben Sie **3 Tropfen** der Lösung (ca. 120 µl) senkrecht in die Probenöffnung der Testkassette. Vermeiden Sie dabei Luftblasen. Starten Sie die Zeitmessung.



4. Lesen Sie das Ergebnis nach 10 Minuten ab

Stark positive Ergebnisse können auch früher abgelesen werden.

Warten Sie nicht länger als 20 Minuten mit dem Ablesen!

Warten Sie nicht länger als 20 Minuten mit dem Ablesen des Ergebnisses!

Auswertung

Positives Testergebnis:

Zwei bis drei rote Linien erscheinen im Sichtfenster:

Eine bis zwei Testlinien (T), welche das Testergebnis anzeigen und eine Kontrolllinie (C), die den korrekten Ablauf des Tests bestätigt.

Achtung: Die Farbintensität der Testlinien (T) ist proportional zur Konzentration der Rota-, bzw. Adenoviren in der Probe. Die Testlinien können daher auch eine schwächere Färbung als die Kontrolllinie aufweisen und deshalb zwischen rosa und rot variieren. D.h. jede Verfärbung innerhalb der Auswertungszeit muss als positiv interpretiert werden.



Negatives Testergebnis:

Eine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C):

Das vollständige **Fehlen von roten Linien** in der Testregion (T) bedeutet ein negatives Ergebnis.



Ungültiges Testergebnis:

Keine rote Linie erscheint in der Kontrollregion (C). Der Test ist **ungültig** und sollte wiederholt werden.

Die häufigsten Gründe für ein ungültiges Testergebnis sind zu geringes Probevolumen, unkorrekte Durchführung des Tests oder Ablauf der Haltbarkeit des Tests.

Bei wiederholtem Nichterscheinen der Kontrolllinie sollte das Testkit nicht weiter benutzt werden. Kontaktieren Sie bitte den Hersteller **Willi Fox**.



9. Qualitätskontrolle

Interne Kontrolle des Testvorgangs: Die im Test integrierte Kontrolllinie (C) zeigt an, dass der Test korrekt durchgeführt wurde, genügend Probeflüssigkeit vorhanden war und der Testvorgang wie vorgesehen abgelaufen ist.

Externe Kontrolle des Tests: Externe Kontrollen werden nicht mitgeliefert. Nach den Richtlinien für gute Laborpraxis (GLP) wird empfohlen, Positiv- und Negativkontrollen durchzuführen, um eine korrekte Testqualität sicherzustellen.

10. Einsatzbereich und Grenzen

- Der **Willi Fox** – Rota/Adenovirus Combo-Stuhlschnelltest ist für den professionellen in vitro Gebrauch bestimmt und sollte nur zum qualitativen Nachweis von Rota- und Adenoviren verwendet werden.
Aus der Intensität der Farblinie sollte keine Interpretation abgeleitet werden.
- Der **Willi Fox** – Rota/Adenovirus Combo-Stuhlschnelltest weist lediglich das qualitative Vorhandensein Rota- und/oder Adenoviren in der Probe nach und darf nicht alleiniges Kriterium zur Diagnose einer Rota/Adenoviren Infektion sein.
Wie alle diagnostischen Tests muss das Ergebnis zusammen mit den klinischen Informationen interpretiert werden.

Wenn das Testresultat negativ ist aber die klinischen Symptome weiterbestehen, sollten unbedingt zusätzliche Tests, welche auf anderen klinischen Methoden basieren, durchgeführt werden. Ein negatives Testresultat schliesst nie gänzlich die Möglichkeit einer Rota- oder Adenovirusinfektion aus. Insbesondere nicht wenn die Konzentration der Viren unterhalb der Nachweisgrenze liegt.

11. Testeigenschaften

A. Analytische Sensitivität und Spezifität

Der *Willi Fox* – Rota/Adenovirus Combo-Schnelltest wurde in einer Vergleichsstudie mit der Testmethode der Latexagglutination aufgrund derselben klinischen Proben verglichen.

Die Studie ergab diese Ergebnisse:

Willi Fox – Rotavirus Schnelltest im Vergleich mit Latexagglutination

Methode		<i>Willi Fox</i> – Rotavirus Schnelltest		Totale Ergebnisse	
Latexagglutination	Ergebnis	Positiv	Negativ		
		Positiv	224	2	226
		Negativ	0	156	156
Totale Ergebnisse:		224	158	382	

Relative Sensitivität: 99,1% (96,8% - 99,9%)

Relative Spezifität: >99,9% (97,7% - 100%)

Totale Übereinstimmung: 99,5% (98,1% - 99,9%)

Willi Fox – Adenovirus Schnelltest im Vergleich mit Latexagglutination

Methode		<i>Willi Fox</i> – Adenovirus Schnelltest		Totale Ergebnisse	
Latexagglutination	Ergebnis	Positiv	Negativ		
		Positiv	82	0	82
		Negativ	1	156	157
Totale Ergebnisse:		83	156	239	

Relative Sensitivität: >99,9% (95,6% - 99,9%)

Relative Spezifität: 99,4% (96,5% - 99,9%)

Totale Übereinstimmung: 99,6% (97,7% - 99,9%)

B. Kreuzreaktivität









Die Kreuzreaktivität mit folgenden Organismen wurde bei einer Konzentration von $1,0 \times 10^9$ Organismen/mL getestet und diese ergaben jeweils ein negatives Ergebnis mit dem **Willi Fox – Rota/Adenovirus Combo-Schnelltest**:

<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Group B Streptococcus</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Group C Streptococcus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Hemophilus influenzae</i>
<i>Branhamella catarrhalis</i>	<i>E.coli</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	

12. Literatur

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. WILHELMI I, ROMAN E, SANCHEZ-FAUQUIER A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.

13. Symbolerläuterungen

	Produktnummer		nur zum Einmalgebrauch
	Chargennummer		Verfalldatum
	Lagertemperatur		Inhalt
	nur für in vitro-diagnostische Zwecke		Gebrauchsanweisung



Alle **Willi Fox – Rota/Adenovirus Combo-Schnelltests** werden in der Schweiz hergestellt und vertrieben durch:

Willi Fox GmbH
CH - 4001 Basel
Tel. +41 (0)61 534 74 65
Fax +41 (0)61 535 14 80
willifox@willifox.com

www.willifox.com