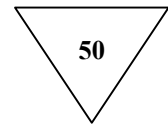


**REF****M80 Rotascreen®****IVD****INTENDED USE**

Rotascreen® is a rapid and simple latex agglutination test for the detection of Rotavirus antigen in faecal specimens. The test is intended for professional use only.

**PRINCIPLE OF THE TEST**

Latex particles in the Rotascreen® Test Reagent are coated with rabbit antibodies raised against a pool of different Rotavirus isolates, including human.

When a faecal extract is mixed with the Test Reagent any Rotavirus antigens present will react with the sensitising antibodies, resulting in visible agglutination of the latex particles.

A Control Reagent, latex particles coated with normal rabbit globulin, is included to identify non-specific reactions which may occur with some faecal specimens.

**CONT**

<b>REAG TEST</b>	M80a	2.5mL
------------------	------	-------

Test reagent - Contains (rabbit) Rotavirus antibody-sensitised latex particles in buffer, with stabiliser, and 0.099% sodium azide as preservative.

<b>REAG CONTROL</b>	M80b	2.5mL
---------------------	------	-------

Control Reagent - Contains (rabbit) normal globulin-sensitised latex particles in buffer, with stabiliser, and 0.099% sodium azide as preservative.

<b>CONTROL +</b>	M80c	1.0mL
------------------	------	-------

Positive Control - Contains inactivated bovine Rotavirus antigens in buffered cell culture medium, with antibiotics, and 0.099% sodium azide as preservative.

<b>SAMP DIL</b>	M80d	50mL
-----------------	------	------

Sample Diluent - Contains working strength buffer, pH 7.2, and 0.099% sodium azide as preservative

Disposable Reaction Cards

Disposable Mixing Sticks

**ADDITIONAL MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED**

Laboratory centrifuge

Stoppered or screw-capped tubes

**WARNINGS AND PRECAUTIONS**

1. Rotascreen® is for *in vitro* diagnostic use only.
2. Do not use reagents after the kit expiration date.
3. Do not interchange reagents from different kit lots.
4. The test should only be performed in accordance with the instructions supplied with the kit.
5. Do not pipette specimens or reagents by mouth.
6. All clinical specimens should be considered infectious and handled and disposed of according to accepted practices. Decontamination of infectious material can be achieved with sodium hypochlorite at a final concentration of 3% for 30minutes. Liquid waste containing acid must be neutralised before treatment.
7. The Positive Control is prepared from inactivated Rotavirus. However, it should be considered as potentially infectious and handled in the same way as a clinical specimen.

8. The reagents in this kit contain sodium azide as preservative which may react with lead or copper plumbing to form highly explosive azides. Upon disposal, flush with a large volume of water to prevent azide build-up.

**STORAGE**

Store all reagents at 2-8°C. **Do not freeze.** Under these conditions the reagents will be usable until the date printed on the outer carton label.

**INDICATIONS OF DETERIORATION**

Deterioration should be suspected if:-

- Clumping of the Test Reagent (M80a) or Control Reagent (M80b) is evident and cannot be removed by gentle mixing.
  - The Positive Control (M80c) or Sample Diluent (M80d) becomes cloudy or forms a sediment.
  - The Positive Control (M80c) fails to cause agglutination of the Test Reagent within the recommended reaction time.
- Reagents showing signs of deterioration should not be used.

**SPECIMEN STORAGE AND PREPARATION**

Faecal specimens should be tested as soon after collection as possible but, if necessary, they may be stored overnight at 2-8°C or for longer periods at -20°C or below. Contaminated samples may give erroneous results.

Prepare an approximate 10% suspension of the faecal specimen by transferring 0.1mL (0.1g) of sample into 1.0mL of **Sample Diluent** in a stoppered or screw-capped tube. Mix the contents well.

Allow to stand at Room Temperature for 1-2 minutes before proceeding with the test.

**USE OF THE POSITIVE CONTROL**

The Positive control should be tested regularly to ensure that the reagents are functioning correctly. The control is ready for use and should be tested in place of the specimen extract in the Test Procedure.

The Positive control should give agglutination of the Test Reagent with no agglutination of the Control

Reagent. Failure to give this agglutination pattern is evidence of reagent deterioration.

**TEST PROCEDURE - STANDARD METHOD USING CENTRIFUGE**

1. Process the specimen as described in Section 8.
2. Allow the reagents to reach room temperature.
3. Centrifuge specimen extract at approximately 1000g for 10 mins.
4. Pipette 50µL of clear supernatant onto each of two wells on the reaction card.
5. Add 1 drop of well-mixed Test Reagent (M80a) to one well and 1 drop of well-mixed Control Reagent (M80b) to the other.
6. Mix the contents of each well using a separate mixing stick for each sample, covering the entire area of the well.
7. Gently rock the card and observe the agglutination for up to two minutes.

**TEST PROCEDURE - FILTER METHOD USING MICROGEN BIOPRODUCTS FILTER PACK M802**

1. Process the specimen as described in Section 8.
2. Allow the reagents to reach room temperature.
3. Remove the stopper and fit integral filter/dropper unit.

4. Holding the whole assembly vertically dispense 1 drop of clear filtrate onto each of two wells on the Test slide.
5. Add 1 drop of well-mixed Test Reagent (M80a) to one well and 1 drop of well-mixed Control Reagent (M80b) to the other.
6. Mix the contents of each well using a separate mixing stick for each sample, covering the entire area of the well.
7. Gently rock the card and observe the agglutination for up to two minutes.

#### INTERPRETATION OF RESULTS

- a) A **positive** result is indicated by agglutination of the Test Reagent (M80a) with no agglutination of the Control Reagent (M80b).
- b) The result is **negative** if no agglutination of either the Test Reagent (M80a) or the Control Reagent (M80b) is observed within the 2 minute test period.

Note: agglutination of the Control Reagent (M80b) is evidence of a non-specific reaction and means that the specimen is unsuitable for testing by this method.

#### LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

Rotascreen® results should be evaluated in the light of all other available clinical and laboratory information. A positive Rotascreen® test does not preclude the possibility of other microbial co-infections. Rotascreen® is intended as an acute-phase test. Faecal samples collected after the acute phase may contain antigen concentrations below the threshold of reagent sensitivity.

#### PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Rotascreen® has been independently evaluated in clinical use at three leading microbiology laboratories in the United Kingdom. Their results can be summarised as follows:

##### Laboratory 1

69 stool specimens were tested by Rotascreen®, in parallel with a respected commercial enzyme immunoassay (EIA) system:

**Table 1 Comparison of Rotascreen® and a commercial EIA system**

	Rotascreen®	Rotascreen®	Total
	+	-	
EIA +	36	1*	37
EIA -	0	32	32
Total	36	33	69

\*EM negative

Sensitivity	97%
Specificity	100%
Predictive value positive	100%
Predictive value negative	97%

##### Laboratory 2

398 stool specimens were tested for Rotavirus by Rotascreen®, electron microscopy, polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) RNA banding, and the WHO reference EIA system.

**Table 2 Comparison of Rotascreen®, EIA, Electron Microscopy and PAGE electrophoresis**

Rotascreen®	EIA	EM	PAGE	No. of Samples	% of total samples
+	+	+	+	161	40.25
+	+	+	-	18	4.5
-	+	+	+	8	2.0
+	+	-	+	22	5.5
-	+	-	+	3	0.75
-	+	+	-	7	1.75
+	+	-	-	62	15.5
-	+	-	-	22	5.5
-	-	-	-	95	23.75

If a true Rotavirus positive is defined as a specimen which is positive by two or more tests, performance of the different assays can be summarised as follows:

**Table 3 Summary of performance of Rotascreen®, in comparison with EIA, EM and PAGE**

	Rotascreen®	EIA	EM	PAGE
Sensitivity	93%	100%	69%	69%
Specificity	100%	81%	100%	100%
Predictive value positive	100%	93%	100%	100%
Predictive value negative	87%	100%	57%	57%

##### Laboratory 3

278 stool specimens were characterised by electron microscopy, EIA and PAGE RNA banding. True positives were considered to be those specimens positive by one or more of these tests. True negatives were those which were negative by all tests. The characterised sera were then tested by Rotascreen® in parallel with two other commercially available slide latex tests. Results can be summarised as follows:

**Table 4 Comparison of Rotascreen® and two commercially available slide latex tests**

	Rotascreen®	Latex 1	Latex 2
Sensitivity	91%	87%	76%
Specificity	97%	94%	86%
% of specimens which agglutinated both test and control latex reagents	1%	2%	14%
Predictive value positive*	98%	97%	99%
Predictive value negative*	95%	90%	92%

- \* Note: specimens giving agglutination of both Test and Control latex reagents were excluded from the calculation of Predictive Values.

##### Intra Batch Reproducibility

Intra batch reproducibility has been determined by running a panel of 5 positive and 5 negative samples on 10 separate occasions using four different operators. No differences in interpretation was noted on any of the test dates or across any of the operators.

**Interbatch sensitivity and specificity** is maintained by monitoring each batch against reference panels of samples and serial dilutions of a sensitivity standard (Rota positive sample).

F

#### USAGE PREVU

Rotascreen® est un test d'agglutination au latex rapide et simple pour détecter la présence de l'antigène rotavirus dans les échantillons fécaux.

Ce test est à usage professionnel uniquement.

#### PRINCIPE DU TEST

Les particules de latex du réactif test Rotascreen® ont des anticorps de lapin fixés sur leur paroi et cultivés par rapport à un pool de différents isolats de rotavirus, notamment des isolats humains.

Lorsqu'un extrait fécal est mélangé au réactif test, les antigènes rotavirus présents réagissent avec les anticorps sensibilisants, entraînant une agglutination visible des particules de latex.

Un réactif de contrôle (des particules de latex ayant de la globuline de lapin normale fixée sur leur paroi) est inclus pour identifier les relations non spécifiques susceptibles de se produire avec certains échantillons fécaux.

#### CONT

##### REAG TEST

M80a 2,5 ml

Réactif test – Contient des particules de latex sensibilisées aux anticorps de rotavirus (lapin) dans une solution tampon, avec stabilisateur, et de l'azote de sodium à 0,099 % en tant que conservateur.

##### REAG CONTROL

M80b 2,5 ml

Réactif de contrôle – Contient des particules de latex sensibilisées à la globuline normale (lapin) dans une solution tampon, avec stabilisateur, et de l'azote de sodium à 0,099 % en tant que conservateur.

**CONTROL +**

M80c 1,0 ml

Contrôle positif – Contient des antigènes de rotavirus de bovin inactivés dans un milieu de culture de cellules tamponné, avec antibiotiques, et de l'azoture de sodium à 0,099 % en tant que conservateur.

**SAMP DIL**

M80d 50 ml

Diluant d'échantillon – Contient une solution tampon active, avec un pH de 7,2, et de l'azoture de sodium à 0,099 % en tant que conservateur

Cartes réactives jetables  
Bâtonnets de mélange jetables

**MATERIELS SUPPLEMENTAIRES REQUIS NON FOURNIS**

Centrifugeuse pour laboratoire  
Tubes avec bouchon rodé ou vissé

**AVERTISSEMENTS ET MESURES DE SECURITE**

1. Rotascreen® est destiné à un usage diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Ne pas utiliser les réactifs une fois la date de péremption de la trousse dépassée.
3. Ne pas intervertir les réactifs de trousse de différents lots.
4. Effectuer le test en respectant les instructions fournies avec la trousse.
5. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche.
6. Tous les échantillons cliniques doivent être considérés comme infectieux, manipulés et jetés selon des pratiques acceptées. Décontaminer les produits infectants avec une solution d'hypochlorite de sodium à une concentration finale de 3 % pendant 30 minutes. Les déchets liquides contenant de l'acide doivent être neutralisés avant traitement.
7. Le contrôle positif est préparé à partir de rotavirus *inactivé*. Il doit toutefois être considéré potentiellement infectieux et manipulé de la même manière qu'un échantillon clinique.
8. Les réactifs figurant dans cette trousse contiennent de l'azoture de sodium qui joue le rôle de conservateur et qui est susceptible de précipiter avec une tuyauterie en plomb ou en cuivre pour former des azotures hautement explosifs. Lors de leur élimination, nettoyer à grande eau pour prévenir une accumulation d'azoture.

**CONSERVATION**

Conservé tous les réactifs à 2-8°C. **Ne pas congeler.** Les réactifs pourront ainsi être utilisés jusqu'à la date imprimée sur l'emballage.

**INDICATIONS DE DETERIORATION**

Suspecter une détérioration des réactifs si :-

- L'agglutination du réactif test (M80a) ou du réactif de contrôle (M80b) est évidente et ne peut pas être supprimée en remuant doucement.
- Le contrôle positif (M80c) ou le diluant d'échantillon (M80d) se trouble ou se sédimente.
- Le contrôle positif (M80c) ne parvient pas à entraîner l'agglutination du réactif test dans le temps de réaction imparti.

Ne pas utiliser de réactifs présentant des signes de détérioration.

**CONSERVATION ET PREPARATION DES ECHANTILLONS**

Tester les échantillons fécaux rapidement après leur collecte mais, si besoin est, il est possible de les conserver toute la nuit à 2-8 °C ou pour une période plus longue à -20 °C maximum. Les échantillons contaminés peuvent donner des résultats erronés.

Préparer une suspension d'environ 10 % d'échantillon fécal en transférant 0,1 ml (0,1g) d'échantillon dans 1,0 ml de **diluant d'échantillon** dans un tube avec bouchon rodé ou vissé. Bien mélanger le contenu.

Laisser à température ambiante pendant 1-2 minutes avant de poursuivre le test.

**UTILISATION DU CONTROLE POSITIF**

Tester le contrôle positif à intervalles réguliers pour s'assurer que les réactifs fonctionnent correctement. Le contrôle est fourni prêt à l'emploi et doit être testé à la place de l'extrait d'échantillon lors de la procédure de test.

Le contrôle positif doit entraîner l'agglutination du réactif test, mais non celle du réactif

de contrôle. Le réactif est détérioré si ce schéma d'agglutination n'est pas respecté.

**PROCEDURE TEST – METHODE STANDARD UTILISANT UNE CENTRIFUGEUSE**

1. Traiter l'échantillon comme décrit à la section 8.
2. Laisser les réactifs atteindre la température ambiante.
3. Centrifuger l'extrait d'échantillon à environ 1 000 g pendant 10 minutes.
4. Pipeter 50 µl de surnageant clair sur les deux puits de la carte réactive.
5. Ajouter 1 goutte de réactif test bien mélangé (M80a) à un puits et 1 goutte de réactif de contrôle bien mélangé (M80b) à l'autre.
6. Mélanger le contenu de chaque puits avec un bâtonnet de mélange distinct pour chaque échantillon, en recouvrant toute la surface du puits
7. Remuer doucement la carte et observer l'apparition de l'agglutination pendant deux minutes maximum.

**PROCEDURE DE TEST – METHODE DE FILTRAGE UTILISANT LE FILTRE MICROGEN BIOPRODUCTS M802**

1. Traiter l'échantillon comme décrit à la section 8.
2. Laisser les réactifs atteindre la température ambiante.
3. Retirer le bouchon rodé et adapter le compte-gouttes/filtre.
4. Tenir l'unité à la verticale et verser 1 goutte de filtrat transparent sur chacun des deux puits de la lame test.
5. Ajouter 1 goutte de réactif test bien mélangé (M80a) à un puits et 1 goutte de réactif de contrôle bien mélangé (M80b) à l'autre.
6. Mélanger le contenu de chaque puits avec un bâtonnet de mélange distinct pour chaque échantillon, en recouvrant toute la surface du puits.
7. Remuer doucement la carte et observer l'apparition de l'agglutination pendant deux minutes maximum.

**INTERPRETATION DES RESULTATS**

- a) Un résultat **positif** est indiqué par l'agglutination du réactif test (M80a) et par l'absence d'agglutination du réactif de contrôle (M80b).  
b) Le résultat est **négatif** si aucune agglutination du réactif test (M80a) ou du réactif de contrôle (M80b) n'est observée au cours des 2 minutes que dure le test.

Remarque : L'agglutination du réactif de contrôle (M80b) prouve l'existence d'une réaction non spécifique et signifie que l'échantillon ne peut pas être testé avec cette méthode.

**LIMITES DE LA PROCEDURE**

Les résultats Rotascreen® doivent être évalués à la lumière de toutes les autres informations cliniques et de laboratoire disponibles.

Un test Rotascreen® positif n'exclut pas la possibilité d'autres coinfections microbiennes.

Rotascreen® est conçu comme un test de phase aiguë. Les échantillons fécaux collectés après la phase aiguë peuvent contenir des concentrations d'antigène inférieures au seuil de sensibilité des réactifs.

**CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE**

Rotascreen® a été évalué indépendamment lors d'une utilisation clinique dans trois importants laboratoires microbiologiques du Royaume-Uni. Les résultats peuvent être résumés comme suit :

Laboratoire 1

69 échantillons de selles ont été testés par Rotascreen®, en parallèle avec un système de dosage immuno-enzymatique (EIA) éprouvé disponible dans le commerce :

**Tableau 1 Comparaison du Rotascreen® et d'un système EIA disponible dans le commerce**

	Rotascreen® +	Rotascreen® -	Total
EIA +	36	1*	37
EIA -	0	32	32
Total	36	33	69

\*EM négatif

Sensibilité	97%
Spécificité	100%
Valeur positive prédictive	100%
Valeur négative prédictive	97%

**Laboratoire 2**

398 échantillons de selles ont été testés pour détecter la présence de rotavirus par Rotascreen<sup>®</sup>, microscopie électronique, cerclage de l'acide ribonucléique PAGE (électrophorèse en gel de polyacrylamide) et le système EIA de référence de l'OMC.

**Tableau 2 : Comparaison de Rotascreen<sup>®</sup>, EIA, microscopie électronique et électrophorèse PAGE**

Rotascreen <sup>®</sup>	EIA	EM	PAGE	No. d'échantillons	% des échantillons totaux
+	+	+	+	161	40.25
+	+	+	-	18	4.5
-	+	+	+	8	2.0
+	+	-	+	22	5.5
-	+	-	+	3	0.75
-	+	+	-	7	1.75
+	+	-	-	62	15.5
-	+	-	-	22	5.5
-	-	-	-	95	23.75

Si un véritable rotavirus positif est défini comme un échantillon positif par au moins deux tests, les performances des différents dosages peuvent être résumées comme suit :

**Tableau 3 : Résumé des performances du Rotascreen<sup>®</sup> par comparaison avec EIA, EM et PAGE**

	Rotascreen <sup>®</sup>	EIA	EM	PAGE
Sensibilité	93%	100%	69%	69%
Spécificité	100%	81%	100%	100%
Valeur positive prédictive	100%	93%	100%	100%
Valeur négative prédictive	87%	100%	57%	57%

**Laboratoire 3**

278 échantillons de selles ont été caractérisés par microscopie électronique, EIA et cerclage de l'acide ribonucléique PAGE. De véritables rotavirus ont été considérés comme étant les échantillons ayant été jugés positifs par au moins un test. Les véritables rétrovirus négatifs sont des rétrovirus qui ont été jugés négatifs par tous les tests. Les sérums caractérisés ont ensuite été testés par Rotascreen<sup>®</sup> en parallèle avec deux autres tests au latex sur lame disponible dans le commerce. Les résultats peuvent être résumés comme suit :

**Tableau 4 : Comparaison du Rotascreen<sup>®</sup> avec deux tests au latex sur lame disponibles dans le commerce**

	Rotascreen <sup>®</sup>	Latex 1	Latex 2
Sensibilité	91%	87%	76%
Spécificité	97%	94%	86%
% des échantillons qui ont agglutiné les réactifs latex test et de contrôle	1%	2%	14%
Valeur positive prédictive*	98%	97%	99%
Valeur négative prédictive*	95%	90%	92%

- Remarque : Les échantillons agglutinant les deux réactifs latex test et de contrôle ont été exclus du calcul des valeurs prédictives.

**Reproductibilité inter-lots**

La reproductibilité inter-lots a été déterminée en faisant tester une microplaque de 5 échantillons positifs et de 5 échantillons négatifs en 10 occasions différentes par quatre opérateurs différents. Aucune différence d'interprétation n'a été notée quant à l'une des dates des tests ou entre les opérateurs.

**La sensibilité et la spécificité inter-lots** est assurée en comparant chaque lot par rapport à des microplaques de référence d'échantillons et à des suspensions-dilutions d'une sensibilité standard (échantillon de rotavirus positif).

**ZWECKBESTIMMUNG**

Rotascreen<sup>®</sup> ist ein einfacher Latexagglutinations-Schnelltest zum Nachweis von Rotavirus-Antigenen in Stuhlproben. Das Produkt sollte nur von fachmännischem Personal verwendet werden.

**TESTPRINZIP**

Latexpartikel im Rotascreen<sup>®</sup> Testreagenz wurden mit Kaninchen-Antiserum gegen einen Pool verschiedener Rotavirus-Isolate, einschließlich humanem Rotavirus, behandelt.

Wird eine Stuhlprobe mit dem Testreagenz vermischt, wird jegliches anwesende Rotavirus-Antigen mit den sensibilisierenden Antikörpern reagieren und zu einer sichtbaren Agglutination der Latexpartikel führen.

Ein Kontrollreagenz, mit normalem Kaninchenglobulin behandelte Latexpartikel, ist beigelegt, um bei manchen Stuhlproben auftretende, nicht-spezifische Reaktionen zu identifizieren.

**CONT****REAG TEST**

M80a 2.5mL

Testreagenz - Enthält (Kaninchen)-Rotavirus mit antikörper-sensibilisierten Latexpartikeln in Puffer, mit Stabilisator und 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

**REAG CONTROL**

M80b 2.5mL

Kontrollreagenz - Enthält (Kaninchen) Normalglobulin-sensibilisierte Latexpartikel in Puffer, mit Stabilisator und 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

**CONTROL +**

M80c 1.0mL

Positivkontrolle - Enthält inaktivierte Rinder-Rotavirus-Antigene in gepuffertem Zellkulturmedium, mit Antibiotika und 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel.

**SAMP DIL**

M80d 50mL

Probenverdünner - Enthält fertigen Puffer, pH 7,2 mit 0,099 % Natriumazid als Konservierungsmittel

Einwegreaktionskarten

Einwegrührstäbchen

**ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE, NICHT ENTHALTENE MATERIALIEN**

Laborzentrifuge

Kolben mit Stopfen oder Schraubverschluss

**WARNHINWEISE UND SICHERHEITSVORKEHRUNGEN**

- Rotascreen<sup>®</sup> ist nur für die *In-vitro*-Diagnostik bestimmt.
- Nicht nach dem Verfalldatum am Kit verwenden.
- Reagenzien verschiedener Kitchargen sollten nicht untereinander ausgetauscht werden.
- Der Test sollte nur nach der Gebrauchsanweisung im Kit durchgeführt werden.
- Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren.
- Alle klinischen Proben sollten als infektiös angesehen und gemäß anerkannter Verfahren behandelt und entsorgt werden. Die Dekontamination infektiöser Materials kann mit Natriumhypochlorit bei einer Endkonzentration von 3 % über 30 Minuten erfolgen. Flüssige Abfallstoffe, die Säuren enthalten, müssen vor der Behandlung neutralisiert werden.
- Die Positivkontrolle wurde aus inaktiviertem Rotavirus hergestellt. Sie sollte jedoch als potenziell infektiös angesehen und genauso wie klinische Proben behandelt werden.
- Die Reagenzien in diesem Kit enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel, das mit in Abflussinstallationen vorhandenem Blei oder Kupfer reagieren und zur Anreicherung von explosiven Metallaziden führen kann. Nach der Entsorgung mit reichlich Wasser nachspülen, um die Anreicherung von Metallazid-Verbindungen zu vermeiden.

**AUFBEWAHRUNG**

Alle Reagenzien bei 2-8°C lagern. **Nicht einfrieren.** Unter diesen Bedingungen können die Reagenzien bis zum aufgedruckten Datum auf der Außenverpackung verwendet werden.

## VERFALLSHINWEISE

Reagenzien könnten verdorben sein, wenn:

- sich Klumpen in der Testreagenz (M80a) oder Kontrollreagenz (M80b) zeigen, die sich durch vorsichtiges Schütteln nicht auflösen lassen
- die Positivkontrolle (M80c) oder der Probenverdünner (M80d) trüb sind oder sich Ablagerungen bilden.
- die Positivkontrolle (M80c) mit dem Testreagenz innerhalb der empfohlenen Reaktionszeit keine Agglutination hervorruft.

Reagenzien, die Anzeichen des Verfalls aufweisen, sollten nicht verwendet werden.

## PROBENAUFBEWAHRUNG UND -ZUBEREITUNG

Stuhlproben sollten so bald wie möglich getestet werden. Bei Bedarf können Sie über Nacht bei 2-8°C oder für längere Zeiten bei -20°C oder tiefer gelagert werden. Kontaminierte Proben können falsche Ergebnisse liefern.

Bereiten Sie eine ungefähr 10 %ige Suspension der Stuhlprobe vor, in dem Sie in einen Kolben mit Stopfen- oder Schraubverschluss 0,1 mL (0,1 g) der Probe in 1,0 mL Probenverdünner geben. Inhalt gut vermischen.

Bei Raumtemperatur 1-2 Minuten stehen lassen, bevor mit dem Test fortgefahren wird.

## VERWENDUNG DER POSITIVKONTROLLE

Um sicherzustellen, dass die Reagenzien korrekt funktionieren, sollte die Positivkontrolle regelmäßig getestet werden. Die Kontrolle ist gebrauchsfertig und sollte im Testverfahren anstatt des Probenauszugs verwendet werden.

Die Positivkontrolle sollte mit dem Testreagenz eine Agglutination und mit dem Kontrollreagenz keine Agglutination hervorrufen. Zeigt sich dieses Agglutinationsmuster nicht, ist dies ein Hinweis auf verdorbene Reagenzien.

## TESTVERFAHREN - STANDARDMETHODE MITTELS ZENTRIFUGE

1. Verfahren Sie mit der Probe wie in Abschnitt 8 beschrieben.
2. Reagenzien auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
3. Probenauszug bei ca. 1000 g für 10 Min. zentrifugieren.
4. 50 µL des Überstandes in beide Kavitäten der Reaktionskarte pipettieren.
5. 1 Tr. der gut geschüttelten Testreagenz (M80a) in eine Kavität und 1 Tr. der gut geschüttelten Kontrollreagenz (M80b) in die andere geben.
6. Mischen Sie den Inhalt der Kavitäten mit einem eigenen Rührstäbchen für jede Probe und verstreichen Sie es über die gesamte Kavität.
7. Karte vorsichtig schwenken und nach maximal zwei Minuten auf Agglutination hin überprüfen.

## TESTVERFAHREN - FILTERMETHODE MITTELS MICROGEN BIOPRODUCTS FILTER PACK M802

1. Verfahren Sie mit der Probe wie in Abschnitt 8 beschrieben.
2. Reagenzien auf Raumtemperatur abkühlen lassen.
3. Entfernen Sie den Stopfen und setzen Sie den Integralfilter/die Tropfeinheit ein.
4. Während Sie die Einheit vertikal halten, geben Sie 1 Tr. des klaren Filtrates in jede Kavität des Objektträgers.
5. 1 Tr. der gut geschüttelten Testreagenz (M80a) in eine Kavität und 1 Tr. der gut geschüttelten Kontrollreagenz (M80b) in die andere geben.
6. Mischen Sie den Inhalt der Kavitäten mit einem eigenen Rührstäbchen für jede Probe und verstreichen Sie es über die gesamte Kavität.
7. Karte vorsichtig schwenken und nach maximal zwei Minuten auf Agglutination hin überprüfen.

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

- a) Ein **positives** Ergebnis liegt bei Agglutination mit dem Testreagenz (M80a) und keiner Agglutination mit dem Kontrollreagenz (M80b) vor.
- b) Das Ergebnis ist **negativ**, wenn es sowohl beim Testreagenz (M80a) als auch dem Kontrollreagenz (M80b) zu keiner Agglutination innerhalb der 2minütigen Testperiode gekommen ist.

Anmerkung: Eine Agglutination des Kontrollreagenz (M80b) ist ein Hinweis auf eine nicht-spezifische Reaktion und bedeutet, dass die Probe für die Testung mit dieser Methode ungeeignet ist.

## VERFAHRENSEINSCHRÄNKUNGEN

Die Rotascreen® Ergebnisse sollten angesichts aller vorhandenen klinischen und Laborinformationen beurteilt werden.

Ein positiver Rotascreen® Test schließt die Möglichkeit anderer mikrobieller Ko-Infektionen nicht aus.

Rotascreen® ist zur Verwendung als Akute-Phase-Test bestimmt. Stuhlproben, die nach der akuten Phase gesammelt wurden, können Antigenkonzentrationen unterhalb der Sensibilitätsschwelle der Reagenzien enthalten.

## LEISTUNGSDATEN

Rotascreen® wurde in drei führenden mikrobiologischen Laboratorien in Großbritannien in klinischen Studien unabhängig voneinander untersucht. Ihre Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

### Labor 1

69 Stuhlproben wurden mit Rotascreen® getestet, parallel zu einem angesehenen kommerziellen Enzym-Immunoassay- (EIA)-System:

**Tabelle 1 Vergleich von Rotascreen® und kommerziellem EIA-System**

	Rotascreen® +	Rotascreen® -	Gesamt
EIA +	36	1*	37
EIA -	0	32	32
Gesamt	36	33	69

\*EM-negativ

Sensitivität	97%
Spezifität	100%
Positiver Vorhersagewert	100%
Negativer Vorhersagewert	97%

### Labor 2

398 Stuhlproben wurden mittels Rotascreen®, Elektronenmikroskopie, Polyacrylamid-Gelelektrophorese- (PAGE)- RNA-Banding und dem WHO-Referenz-EIA-System auf Rotavirus getestet.

**Tabelle 2 Vergleich von Rotascreen®, EIA, Elektronenmikroskopie und PAGE-Elektrophorese**

Rotascreen®	EIA	EM	PAGE	Zahl der Proben	% der Gesamtproben
+	+	+	+	161	40.25
+	+	+	-	18	4.5
-	+	+	+	8	2.0
+	+	-	+	22	5.5
-	+	-	+	3	0.75
-	+	+	-	7	1.75
+	+	-	-	62	15.5
-	+	-	-	22	5.5
-	-	-	-	95	23.75

Wird ein echtes Positivergebnis für Rotavirus definiert als Probe, die bei Testung mit zwei oder mehreren Tests positiv ist, dann kann die Leistung der verschiedenen Analysen wie folgt zusammengefasst werden:

**Tabelle 3 Zusammenfassung der Leistung von Rotascreen® im Vgl. zu EIA, EM und PAGE**

	Rotascreen®	EIA	EM	PAGE
Sensitivität	93%	100%	69%	69%
Spezifität	100%	81%	100%	100%
Positiver Vorhersagewert	100%	93%	100%	100%
Negativer Vorhersagewert	87%	100%	57%	57%

### Labor 3

278 Stuhlproben wurden mittels Elektronenmikroskopie, EIA und PAGE RNA-Banding charakterisiert. Als echte Positivergebnisse wurden die Proben gewertet, die bei einem oder mehreren dieser Tests positiv waren. Echte Negativergebnisse waren alle die, die bei allen Tests negativ waren. Die charakterisierten Seren wurden dann mittels Rotascreen®, parallel mit zwei anderen kommerziell

erhältlichen Objektträger-Latextests, getestet. Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

**Tabelle 4** Vergleich von Rotascreen® und zwei kommerziell erhältlichen Objektträger-Latextests

	Rotascreen®	Latex 1	Latex 2
Sensitivität	91%	87%	76%
Spezifität	97%	94%	86%
% der Proben, die sowohl mit Test- als auch Kontroll-Latexreagenz agglutinierten	1%	2%	14%
Positiver Vorhersagewert*	98%	97%	99%
Negativer Vorhersagewert*	95%	90%	92%

- Anmerkung: Proben, die sowohl mit dem Test- als auch mit dem Kontroll-Latexreagenz agglutinierten, wurden aus der Berechnung des prädiktiven Wertes ausgeschlossen.

#### Reproduzierbarkeit innerhalb der Charge

Die Reproduzierbarkeit innerhalb der Charge wurde durch Testung durch vier verschiedene Anwender zu 10 verschiedenen Anlässen mittels einer Reihe von 5 positiven und 5 negativen Proben durchgeführt. Es wurden an keinem der Testtage und bei keinem der Anwender Unterschiede in der Interpretation festgestellt.

**Sensitivität und Spezifität zwischen den Chargen** wird durch die Überwachung jeder Charge gegen eine Reihe von Referenzproben und Verdünnungsreihen eines Sensitivitätsstandards (Rota-positive Probe) aufrecht erhalten.



#### USO PREVISTO

Rotascreen® è un test di agglutinazione al lattice semplice e rapido per l'individuazione dell'antigene di Rotavirus nei campioni di feci. Il test è solo per uso professionale.

#### PRINCIPIO DEL TEST

Le particelle di lattice nel Reagente del Test Rotascreen® sono rivestite di anticorpi di coniglio diretti verso un insieme di diversi isolati di Rotavirus, compreso quello umano.

Miscelando un estratto fecale con il Reagente per il Test, ogni antigene di Rotavirus presente reagisce con gli anticorpi sensibilizzanti dando luogo a un'agglutinazione visibile delle particelle di lattice.

Il Test comprende anche un Reagente di Controllo, particelle di lattice rivestite di normali globuline di coniglio, per l'identificazione di reazioni non specifiche che possono verificarsi con alcuni campioni di feci.

#### CONTENUTO

**REAG TEST** M80a 2,5 mL  
Reagente per il Test – Contiene particelle di lattice sensibilizzate con anticorpi (di coniglio) Anti Rotavirus in tampone, con uno stabilizzatore e azide sodica allo 0,099% come conservante.

**REAG CONTROL** M80b 2,5 mL  
Reagente di Controllo – Contiene particelle di lattice sensibilizzate con globuline normali (di coniglio) in tampone, con uno stabilizzatore e azide sodica allo 0,099% come conservante.

**CONTROL +** M80c 1,0 mL  
Controllo Positivo – Contiene antigeni di Rotavirus bovino inattivato in un mezzo di coltura cellulare tamponato, con antibiotici e azide sodica allo 0,099% come conservante.

**SAMP DIL** M80d 50mL  
Diluyente del Campione – Contiene un tampone alla concentrazione d'uso, a pH 7,2 e azide sodica allo 0,099% come conservante.

Cartoncini reattivi monouso  
Bacchette per miscelazione monouso

#### ALTRO MATERIALE NECESSARIO MA NON FORNITO

Centrifuga da laboratorio  
Provette con tappo a pressione o con tappo a vite

#### AVVERTENZE E PRECAUZIONI

- Rotascreen® è esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.
- Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza del kit.
- Non scambiare i reagenti di lotti di kit differenti.
- Eseguire il test solo in conformità con le istruzioni fornite con il kit.
- Non pipettare i campioni o i reagenti con la bocca.
- Tutti i campioni clinici devono essere considerati infetti e maneggiati e smaltiti secondo le procedure approvate. Per la decontaminazione del materiale infetto utilizzare ipoclorito di sodio a una concentrazione finale del 3% per 30 minuti. Gli scarti liquidi contenenti acido devono essere neutralizzati prima di trattarli.
- Il Controllo Positivo viene preparato con Rotavirus inattivato. In ogni caso deve essere considerato potenzialmente infetto e maneggiato allo stesso modo dei campioni clinici.
- I reagenti forniti nel kit contengono azide sodica, un conservante che può reagire con le tubature in piombo o in rame formando azidi altamente esplosive. Per lo smaltimento, sciacquare abbondantemente con acqua per evitare l'accumulo di azidi.

#### CONSERVAZIONE

Conservare tutti i reagenti a 2-8°C. **Non congelare.** A queste condizioni è possibile utilizzare i reagenti fino alla data stampata sull'etichetta del contenitore esterno.

#### INDICI DI DETERIORAMENTO

Si deve sospettare il deterioramento se:

- Si nota una agglutinazione del Reagente per il Test (M80a) o del Reagente di Controllo (M80b) che non si riesce a eliminare mescolando delicatamente.
- Il Controllo positivo (M80c) o il Diluyente del Campione (M80d) diventano torbidi o formano un sedimento.
- Non si riesce a provocare l'agglutinazione del Reagente per il Test con il Controllo positivo (M80c) entro il tempo di reazione consigliato.

Non utilizzare i reagenti che mostrano segni di deterioramento.

#### CONSERVAZIONE E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

I campioni di feci devono essere analizzati nel più breve tempo possibile dopo la raccolta ma, se necessario, si possono conservare a 2-8°C fino al giorno successivo o ad almeno -20°C per periodi più lunghi. Campioni contaminati possono dare risultati sbagliati.

Preparare una sospensione al 10% circa del campione di feci trasferendo 0,1 mL (0,1g) del campione in 1,0mL di **Diluyente del Campione** in una provetta con tappo a pressione o con tappo a vite. Miscelare con cura il contenuto.

Lasciare riposare a temperatura ambiente per 1-2 minuti prima di procedere con il test.

#### USO DEL CONTROLLO POSITIVO

E' necessario analizzare regolarmente il Controllo Positivo per assicurarsi del corretto funzionamento dei reagenti. Il controllo è pronto per l'uso e deve essere analizzato al posto dell'estratto del campione secondo la Procedura del Test.

Il Controllo Positivo deve provocare l'agglutinazione del Reagente per il Test senza agglutinazione del Reagente di Controllo. Il mancato raggiungimento di questo schema di agglutinazione è indice di deterioramento del reagente.

#### PROCEDURA DEL TEST – METODICA STANDARD CON L'USO DELLA CENTRIFUGA

- Trattare il campione come descritto alla sezione 8.
- Attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente.
- Centrifugare l'estratto del campione a circa 1.000 g per 10 minuti.
- Pipettare 50µL di supernatante limpido su ciascuno dei due pozzetti sul cartoncino reattivo.
- Aggiungere a un pozzetto 1 goccia di Reagente per il Test (M80a) ben mescolato e all'altro pozzetto 1 goccia di Reagente di Controllo (M80b) ben mescolato.
- Miscelare bene il contenuto di ogni pozzetto usando una diversa bacchetta per miscelazione per ciascun campione, coprendo tutta la superficie del pozzetto.
- Far oscillare delicatamente il cartoncino e osservare l'agglutinazione per due minuti al massimo.

**PROCEDURA DEL TEST - METODICA CON FILTRO UTILIZZANDO IL FILTER PACK M802 DELLA MICROGEN BIOPRODUCTS**

1. Trattare il campione come descritto alla sezione 8.
2. Attendere che i reagenti raggiungano la temperatura ambiente.
3. Rimuovere il tappo e inserire l'unità completa filtro/contagocce.
4. Tenendo tutto l'assemblaggio in verticale dispensare 1 goccia di filtrato limpido su ciascuno dei due pozzetti del vetrino del Test.
5. Aggiungere a un pozzetto 1 goccia di Reagente per il Test (M80a) ben mescolato e all'altro pozzetto 1 goccia di Reagente di Controllo (M80b) ben mescolato.
6. 11.6 Mescolare bene il contenuto di ogni pozzetto usando una diversa bacchetta per miscelazione per ciascun campione, coprendo tutta la superficie del pozzetto.
7. 11.7 Far oscillare delicatamente il cartoncino e osservare l'agglutinazione per due minuti al massimo.

**INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI**

- a) Un risultato **positivo** è indicato dall'agglutinazione del Reagente per il Test (M80a) in assenza di agglutinazione del Reagente di Controllo (M80b).
- b) Il risultato è **negativo** se entro i due minuti del test non si osserva alcuna agglutinazione, né del Reagente per il Test (M80a) né del Reagente di Controllo (M80b).

Nota: l'agglutinazione del reagente di Controllo (M80b) è indice di una reazione aspecifica; ciò significa che il campione non è adatto a essere esaminato con questa metodica.

**LIMITI DELLA PROCEDURA**

I risultati del Rotascree<sup>®</sup> devono essere valutati alla luce di tutte le altre informazioni disponibili, cliniche e di laboratorio. Un test Rotascree<sup>®</sup> positivo non preclude la possibilità di altre coinfezioni microbiche. Rotascree<sup>®</sup> è un test da utilizzare in fase acuta. I campioni di feci raccolti dopo la fase acuta possono contenere concentrazioni di antigeni inferiori alla soglia di sensibilità del reagente.

**CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI**

L'uso clinico del Rotascree<sup>®</sup> è stato valutato in modo indipendente presso tre dei maggiori laboratori di microbiologia della Gran Bretagna. I risultati si possono così riassumere:

Laboratorio 1

69 campioni di feci sono stati analizzati con il Rotascree<sup>®</sup>, in parallelo con un apprezzato sistema immunoenzimatico (EIA) in commercio:

**Tabella 1 Confronto tra Rotascree<sup>®</sup> e un sistema EIA in commercio**

	Rotascree <sup>®</sup> +	Rotascree <sup>®</sup> -	Totale
EIA +	36	1*	37
EIA -	0	32	32
Totale	36	33	69

\* negativo al ME

Sensibilità	97%
Specificità	100%
Valore predittivo positivo	100%
Valore predittivo negativo	97%

Laboratorio 2

398 campioni di feci sono stati analizzati alla ricerca di Rotavirus con il Rotascree<sup>®</sup>, al microscopio elettronico, con bandeggiamento dell'RNA tramite elettroforesi su gel di poliacrilamide (PAGE, polyacrylamide gel electrophoresis) e con il sistema EIA secondo i riferimenti dell'OMS.

**Tabella 2 Confronto tra Rotascree<sup>®</sup>, EIA, microscopio elettronico ed elettroforesi PAGE**

Rotascree <sup>®</sup>	EIA	EM	PAGE	N. di Campioni	% del totale dei campioni
+	+	+	+	161	40.25
+	+	+	-	18	4.5
-	+	+	+	8	2.0
+	+	-	+	22	5.5
-	+	-	+	3	0.75
-	+	+	-	7	1.75
+	+	-	-	62	15.5
-	+	-	-	22	5.5
-	-	-	-	95	23.75

Definendo come vero positivo per Rotavirus un campione che sia positivo ad almeno due test, le prestazioni dei diversi test si possono riassumere così:

**Tabella 3 Riassunto delle prestazioni di Rotascree<sup>®</sup>, nei confronti di EIA, ME e PAGE**

	Rotascree <sup>®</sup>	EIA	ME	PAGE
Sensibilità	93%	100%	69%	69%
Specificità	100%	81%	100%	100%
Valore predittivo positivo	100%	93%	100%	100%
Valore predittivo negativo	87%	100%	57%	57%

Laboratorio 3

278 campioni di feci sono stati caratterizzati al microscopio elettronico, con l'EIA e con il bandeggiamento dell'RNA tramite PAGE. Sono stati considerati veri positivi i campioni positivi ad almeno uno dei test. Veri negativi quelli negativi a tutti i test. I sieri caratterizzati sono poi stati esaminati con il Rotascree<sup>®</sup> in parallelo con altri due test al lattice su vetrino disponibili in commercio. I risultati si possono così riassumere:

**Tabella 4 Confronto tra Rotascree<sup>®</sup> e due test al lattice su vetrino disponibili in commercio**

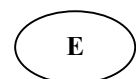
	Rotascree <sup>®</sup>	Lattice 1	Lattice 2
Sensibilità	91%	87%	76%
Specificità	97%	94%	86%
% di campioni che hanno agglutinato sia i reagenti al lattice per il test che quelli di controllo	1%	2%	14%
Valore predittivo positivo*	98%	97%	99%
Valore predittivo negativo*	95%	90%	92%

\* Nota: i campioni che hanno indotto l'agglutinazione sia dei reagenti al lattice per il Test che di quelli di Controllo sono stati esclusi dal calcolo dei Valori Predittivi.

**Riproducibilità intra-lotto**

La riproducibilità intra-lotto è stata determinata processando un gruppo di 5 campioni positivi e 5 campioni negativi in 10 occasioni diverse utilizzando quattro differenti operatori. Non sono state riscontrate differenze di interpretazione nelle diverse occasioni o tra gli operatori.

**La sensibilità e la specificità inter-lotti** vengono mantenute monitorando ogni lotto nei confronti di gruppi di campioni di riferimento e diluizioni seriate di uno standard di sensibilità (campione Rotascree<sup>®</sup> positivo).



**INDICACIONES DE USO**

Rotascree<sup>®</sup> es una prueba de aglutinación enlatas simple para la detección de antígenos de Rotavirus en muestras fecales. Producto para uso únicamente por profesionales.

## PRINCIPIO DEL ENSAYO

Las partículas de látex en el reactivo de ensayo Rotascreen® están revestidas de anticuerpos de conejo dirigidos contra un conjunto de aislados de Rotavirus distintos, incluido el humano.

Al mezclar un extracto fecal con el reactivo de ensayo, cualquier antígeno de Rotavirus presente reaccionará con los anticuerpos sensibilizantes, produciéndose una aglutinación visible de las partículas de látex.

Se incluye un Reactivo de Control, partículas de látex revestidas con globulina de conejo normal, para identificar muestras inespecíficas que pueden producirse en algunas muestras fecales.

### CONT

**REAG TEST** M80a 2.5mL

Reactivo de ensayo: Contiene partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos (de conejo) contra el Rotavirus, en solución tamponada, con estabilizante y azida sódica al 0,099% como conservante.

**REAG CONTROL** M80b 2.5mL

Reactivo de control: Contiene partículas de látex sensibilizadas con globulina normal (de conejo), en solución tamponada, con estabilizante y azida sódica al 0,099% como conservante.

**CONTROL +** M80c 1.0mL

Control positivo: contiene antígenos de Rotavirus bovino inactivados, en medio de cultivo tamponado, con antibióticos, y azida sódica al 0,099% como conservante.

**SAMP DIL** M80d 50mL

Diluyente de la muestra: Contiene solución tamponada de potencia de trabajo, pH 7,2 y azida sódica al 0,099% como conservante.

Tarjetas de reacción desechables

Varillas para mezclar desechables

## MATERIALES NECESARIOS QUE NO SE INCLUYEN

Centrífuga de laboratorio

Tubos taponados o con tapón de rosca

## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Rotascreen® es sólo para uso diagnóstico *in vitro*.
2. No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad del kit.
3. No mezclar reactivos de lotes diferentes de kits.
4. El ensayo deberá realizarse únicamente según las instrucciones suministradas con el kit.
5. No pipetear las muestras ni los reactivos con la boca.
6. Todas las muestras clínicas deberán considerarse infecciosas y deberán eliminarse con arreglo a las prácticas aceptadas. La descontaminación del material infeccioso puede obtenerse con hipoclorito sódico a una concentración final del 3%, durante 30 minutos. Los desechos líquidos que contienen ácidos deben neutralizarse antes de su tratamiento.
7. El control positivo se prepara a partir de Rotavirus inactivado. Sin embargo, deberá considerarse como si fuera potencialmente infecciosa, igual que una muestra clínica.
8. Los reactivos de este kit contienen azida sódica como conservante, que puede reaccionar con el plomo o el cobre de las tuberías, para formar azidas metálicas que son potencialmente explosivas.. Al desechar el producto, lavar con abundante agua para evitar la acumulación de azidas metálicas.

## ALMACENAMIENTO

Conservar todos los reactivos a una temperatura de 2 a 8 °C. **No congelar.** En estas condiciones, los reactivos serán reutilizables hasta la fecha impresa en la etiqueta del envase.

## INDICACIONES DE DETERIORO

Deberá sospecharse un deterioro si:

- Se evidencia la formación de coágulos en el reactivo de ensayo (M80a) o en el reactivo de control (M80b) que no se pueden eliminar mezclando suavemente.
- El Control positivo (M80c) o el Diluyente de la muestra (M80d) está turbio o forma un sedimento.
- El control positivo (M80c) no produce aglutinación del reactivo de ensayo dentro del tiempo de reacción recomendado.

No deberán utilizarse los reactivos que muestren signos de deterioro.

## ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fecales deberán analizarse lo más pronto posible después de su obtención; sin embargo, si es necesario, pueden conservarse de un día para otro a una temperatura de 2 a 8 °C, o durante períodos prolongados a una temperatura de -20 °C o menos. Las muestras contaminadas pueden dar resultados erróneos.

Preparar una suspensión aproximadamente al 10% de la muestra de heces transfiriendo 0,1 ml (0,1 g) de muestra en 1,0 ml de **Diluyente de la muestra**, en un tubo taponado o con tapón de rosca. Mezclar bien el contenido.

Dejar en reposo a temperatura ambiente durante 1 a 2 minutos antes de continuar con el ensayo.

## USO DEL CONTROL POSITIVO

El control positivo deberá analizarse periódicamente para asegurarse de que los reactivos funcionen correctamente. El control está listo para usar y deberá analizarse en lugar del extracto de la muestra en el procedimiento del ensayo.

El control positivo deberá dar una aglutinación del reactivo de ensayo, sin una aglutinación del reactivo de control. La ausencia de esta pauta de aglutinaciones prueba de deterioro del reactivo.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO: MÉTODO ESTÁNDAR CON CENTRÍFUGA

1. Procesar las muestras tal como se describe en el apartado 8.
2. Esperar que los reactivos alcancen la temperatura ambiental.
3. Centrifugar el extracto de muestra a aproximadamente 1000 g durante 10 minutos.
4. Pipetear 50 µl de sobrenadante límpido en cada uno de dos pocillos en la tarjeta de reacción.
5. Añadir una gota de reactivo de ensayo bien mezclado (M80a) a un pocillo y una gota de reactivo de control bien mezclado (M80b) al otro.
6. Con una varilla para mezclar distinta para cada muestra, mezclar el contenido de cada pocillo, cubriendo toda la superficie del pocillo.
7. Agitar suavemente la tarjeta y observar la presencia de aglutinación durante un máximo de dos minutos.

## PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO: MÉTODO DE FILTRO CON FILTER PACK M802 DE MICROGEN BIOPRODUCTS

1. Procesar las muestras tal como se describe en el apartado 8.
2. Esperar que los reactivos alcancen la temperatura ambiental.
3. Extraer el tapón y acoplar la unidad filtro / cuentagotas.
4. Con todo el conjunto en posición vertical, dispensar una gota de filtrado límpido en cada uno de dos pocillos del portaobjeto de ensayo.
5. Añadir una gota de reactivo de ensayo bien mezclado (M80a) a un pocillo y una gota de reactivo de control bien mezclado (M80b) al otro.
6. Con una varilla para mezclar distinta para cada muestra, mezclar el contenido de cada pocillo, cubriendo toda la superficie del pocillo.
7. Agitar suavemente la tarjeta y observar la presencia de aglutinación durante un máximo de dos minutos.

## INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

- a) Un resultado **positivo** está indicado por la aglutinación del reactivo de ensayo (M80a), sin aglutinación del reactivo de control (M80b).
- b) El resultado es **negativo** si no se observa ninguna aglutinación del reactivo de ensayo (M80a) ni del reactivo de control (M80b) durante los dos minutos del período del ensayo.

Nota: La aglutinación del reactivo de control (M80b) es prueba de una reacción inespecífica y significa que la muestra es inadecuada para su análisis mediante este método.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Los resultados de Rotascreen® deberán interpretarse en el contexto de toda la demás información clínica y de laboratorio disponible.

Una prueba de Rotascreen® positiva no excluye la posibilidad de otra infección microbiana concomitante.

Rotascreen® está indicado como prueba de la fase aguda. Las muestras de heces recogidas después de la fase aguda pueden contener concentraciones de antígeno inferiores a la sensibilidad umbral del reactivo.



## CARACTERÍSTICAS DE LA EJECUCIÓN

Rotascreen® se ha evaluado de manera independiente en tres de los principales laboratorios de microbiología del Reino Unido. Sus resultados pueden resumirse a continuación:

### Laboratorio 1

Sesenta y nueve muestras fueron analizadas con Rotascreen®, paralelamente a un sistema respetado de enzimoanálisis (EIA).

**Tabla 1. Comparación de Rotascreen® con un sistema de EIA comercial**

	Rotascreen® +	Rotascreen® -	Total
EIA +	36	1*	37
EIA -	0	32	32
Total	36	33	69

\*EM negativo

Sensibilidad	97%
Especificidad	100%
Valor predictivo positivo	100%
Valor predictivo negativo	97%

### Laboratorio 2

Se examinó la presencia de Rotavirus en 38 muestras de heces mediante Rotascreen®, microscopía electrónica, electroforesis con gel de poliacrilamida (PAGE), tinción en bandas del ARN y el sistema de EIA de referencia de la OMS.

**Tabla 2. Comparación de Rotascreen®, EIA, microscopía electrónica y electroforesis PAGE**

Rotascreen®	EIA	EM	PAGE	Número de muestras	% de muestras totales
+	+	+	+	161	40.25
+	+	+	-	18	4.5
-	+	+	+	8	2.0
+	+	-	+	22	5.5
-	+	-	+	3	0.75
-	+	+	-	7	1.75
+	+	-	-	62	15.5
-	+	-	-	22	5.5
-	-	-	-	95	23.75

Si un Rotavirus positivo verdadero se define como una muestra que es positiva mediante dos o más pruebas, la ejecución de los distintos análisis puede resumirse a continuación:

**Tabla 3. Resumen de la ejecución de Rotascreen®, en comparación con EIA, EM y PAGE**

	Rotascreen®	EIA	EM	PAGE
Sensibilidad	93%	100%	69%	69%
Especificidad	100%	81%	100%	100%
Valor predictivo positivo	100%	93%	100%	100%
Valor predictivo negativo	87%	100%	57%	57%

### Laboratorio 3

Doscientas setenta y ocho muestras fueron caracterizadas por microscopía electrónica, EIA y tinción en bandas del ARN PAGE. Se consideraron positivas verdaderas aquellas muestras positivas por una o más de estas pruebas. Las negativas verdaderas fueron aquellas negativas a todas las pruebas. Luego, los sueros caracterizados fueron examinados mediante Rotascreen® paralelamente a los otros dos ensayos comerciales de látex en portaobjeto. Sus resultados pueden resumirse a continuación:

**Tabla 4. Comparación de Rotascreen® con dos ensayos comerciales de látex en portaobjeto**

	Rotascreen®	Látex 1	Látex 2
Sensibilidad	91%	87%	76%
Especificidad	97%	94%	86%
% de muestras que se aglutinaron en los reactivos de látex de ensayo y de control	1%	2%	14%
Valor predictivo positivo*	98%	97%	99%
Valor predictivo negativo*	95%	90%	92%

- Nota: Las muestras que dieron aglutinación tanto con el reactivo de látex de ensayo como con el de control se excluyeron del cálculo de los valores predictivos.

### Reproducibilidad intralote:

Se ha determinado la reproducibilidad intralote mediante el procesamiento de un grupo de 5 muestras positivas y 5 muestras negativas en diez ocasiones distintas y con cuatro operadores diferentes. No se observó ninguna diferencia en la interpretación en ninguna de las fechas de prueba ni entre los operadores.

La sensibilidad y la especificidad entre lotes se mantienen mediante la monitorización de cada lote contra grupos de muestras de referencia y diluciones seriadas de un patrón de sensibilidad (muestra positiva a Rotavirus).

Microgen Bioproducts Limited  
1 Admiralty Way  
Camberley  
Surrey  
GU15 3DT  
UK

WF6192 03/2003