
CERTEST
Rotavirus+
Adenovirus+
Astrovirus

ONE STEP *Rotavirus*,
Adenovirus and *Astrovirus*
COMBO CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



For information purposes only

For information purposes only





CERTEST *Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

ENGLISH

INTENDED USE

CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* one step combo card test is a coloured chromatographic immunoassay for the simultaneous qualitative detection of *Rotavirus, Adenovirus* and *Astrovirus* in stool samples.

CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card test offers a simple and highly sensitive screening assay to make a presumptive diagnosis of *Rotavirus, Adenovirus* or *Astrovirus* infection.

INTRODUCTION

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

TEST PRINCIPLE

CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* is based on the principle of a qualitative immunochromatographic assay for the determination of *Rotavirus, Adenovirus* and *Astrovirus* in stool samples.

Strip A consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Rotavirus* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Rotavirus*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip B consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Adenovirus* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Adenovirus*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

Strip C consists of a nitrocellulose membrane pre-coated with mouse monoclonal antibodies on the test line (T), in the results window, against *Astrovirus* and with rabbit polyclonal antibodies, on the control line (C), against a specific protein. The label/sample absorbent pad is sprayed with test label solution (mouse monoclonal antibodies anti-*Astrovirus*) conjugated to red polystyrene latex and control label solution (specific binding protein) conjugated to green polystyrene latex, forming two coloured conjugate complexes.

If the sample is *Rotavirus* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-*Rotavirus* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip A, if the sample is *Adenovirus* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-*Adenovirus* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip B and if the sample is *Astrovirus* positive, the antigens of the diluted sample react with the red-coloured conjugate complex (anti-*Astrovirus* monoclonal antibodies-red polystyrene microspheres) in the strip C, which were previously pre-dried on the absorbent pad. The mixture then moves upward on the membrane by capillary action. As the sample flows through the test membrane, the binding conjugate complexes migrate. The anti-*Rotavirus* antibodies present on the membrane of strip A (test line), the anti-*Adenovirus* antibodies present on the membrane of strip B (test line) and the anti-*Astrovirus* antibodies present on the membrane of strip C (test line) capture the coloured conjugate and the red lines will be visible in the three strips. These bands are used to interpret the result.

If the sample is negative, there is no *Rotavirus, Adenovirus* and *Astrovirus* presence and yet, the antigens may be present in a concentration lower than the detection limit value, for which the reaction will not take place with any red-coloured conjugate complex. The anti-*Rotavirus, Adenovirus* and anti-*Astrovirus* antibodies present on the membranes (test lines) will not capture the antigen-red-coloured conjugate complex (not formed), for which the red lines will not appear.

Whether the sample is positive or not, in the three strips, the mixture continues to move across the membranes to the immobilized specific antibodies placed in the control lines. The anti-specific protein antibodies present on three membranes will capture control green-conjugate complex and three control lines will always appear. The presence of these green lines serve as: 1) verification that sufficient volume is added, 2) that proper flow is obtained and 3) an internal control for the reagents.



STORAGE AND STABILITY

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

PRECAUTIONS

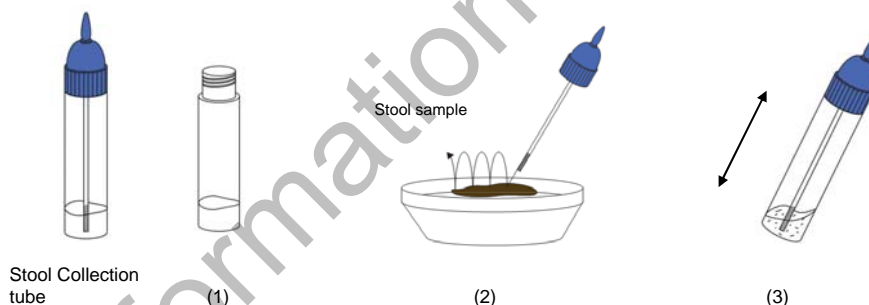
- For professional *in vitro* diagnostic use.
- Do not use after expiration date.
- All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent. A new test must be used for each sample to avoid contamination errors.
- The tests should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- Reagents contain preservatives. Avoid any contact with skin or mucous membrane. Consult safety data sheet, available on request.
- Components provide in the kit are approved for use in the CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card test. Do not use any other commercial kit component.
- Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, goggles and mask. Do not eat, drink or smoke in the working area.

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Stool samples should be collected in clean containers. The samples can be stored in the refrigerator (2-8°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage, maximum 1 year, the specimen must be kept frozen at -20°C. In this case, the sample will be totally thawed and brought to room temperature before testing. Homogenise stool sample as thoroughly as possible prior to preparation.

Specimen preparation (see illustration):

1. Take out the cap of the stool collection tube (1) and use the stick to pick up sufficient sample quantity. Then, introduce the stick once into 4 different parts of the stool sample (2), to collect faecal sample (approx. 125mg) and add it to the stool collection tube. For liquid samples, add approx. 125µL in the collection tube using a micropipette.
2. Close the tube with the diluent and stool sample. Shake the tube in order to assure good sample dispersion (3).



MATERIALS

MATERIALS PROVIDED

- CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card tests
- Instructions for use
- Stool collection tubes with diluent

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

TEST PROCEDURE

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

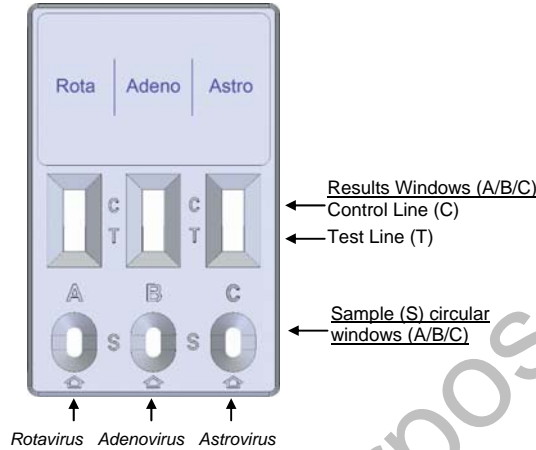
1. Proceed to shake the stool collection tube in order to assure good sample dispersion.
2. Remove CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card test from its sealed bag just before using it.

CERTEST Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus

One Step test to detect Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus en formato cassette

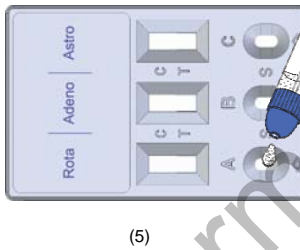
- Take the stool collection tube, cut the end of the cap (4) and dispense 4 drops in the circular window marked with the letter A (5), 4 drops, using the same tube, in the circular window marked with the letter B (6), and 4 drops, using the same tube, in the circular window marked with the letter C (7). Avoid adding solid particles with the liquid.
- Read the results at 10 minutes.** Do not read the test result later than 10 minutes.

If the test does not run due to solid particles, stir the sample added in the sample window (S) with the stick. If it doesn't work, dispense a drop of extraction diluent until seeing the liquid running through the reaction zone.



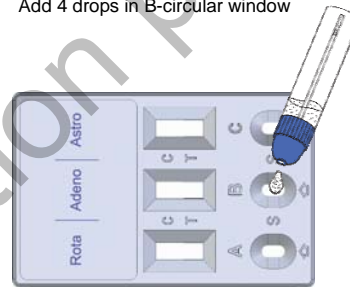
Rotavirus Strip A-procedure

Add 4 drops in A-circular window



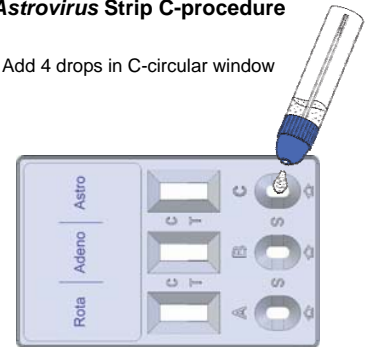
Adenovirus Strip B-procedure

Add 4 drops in B-circular window

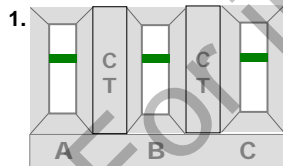


Astrovirus Strip C-procedure

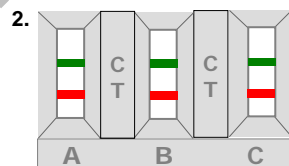
Add 4 drops in C-circular window



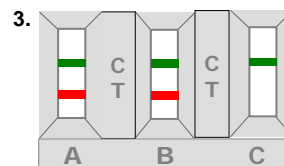
INTERPRETATION OF THE RESULTS (please refer to the illustration below)



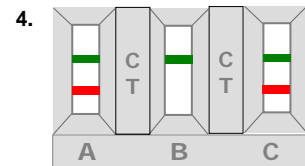
A: Green → Negative Rotavirus
B: Green → Negative Adenovirus
C: Green → Negative Astrovirus



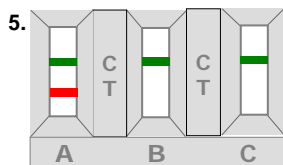
A: Green/Red → Positive Rotavirus
B: Green/Red → Positive Adenovirus
C: Green/Red → Positive Astrovirus



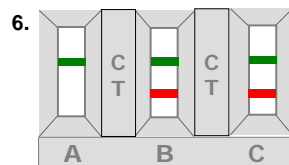
A: Green/Red → Positive Rotavirus
B: Green/Red → Positive Adenovirus
C: Green → Negative Astrovirus



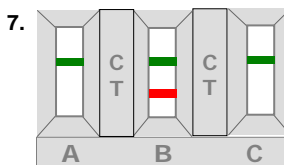
A: Green/Red → Positive Rotavirus
B: Green → Negative Adenovirus
C: Green/Red → Positive Astrovirus



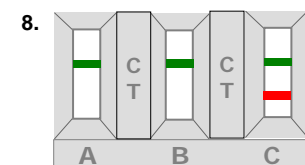
A: Green/Red → Positive Rotavirus
B: Green → Negative Adenovirus
C: Green → Negative Astrovirus



A: Green → Negative Rotavirus
B: Green/Red → Positive Adenovirus
C: Green/Red → Positive Astrovirus



A: Green → Negative Rotavirus
B: Green/Red → Positive Adenovirus
C: Green → Negative Astrovirus



A: Green → Negative Rotavirus
B: Green → Negative Adenovirus
C: Green/Red → Positive Astrovirus

INVALID RESULTS





CERTEST *Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

	A (Rotavirus)	B (Adenovirus)	C (Astrovirus)	Interpretation of the results
1.	- GREEN	- GREEN	- GREEN	There are no <i>Rotavirus, Adenovirus</i> and <i>Astrovirus</i> . No viral infection caused by <i>Rotavirus, Adenovirus</i> or <i>Astrovirus</i> .
2.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	There are <i>Rotavirus, Adenovirus</i> and <i>Astrovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Rotavirus, Adenovirus</i> and <i>Astrovirus</i> .
3.	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	- GREEN	There is <i>Rotavirus</i> and <i>Adenovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Rotavirus</i> and <i>Adenovirus</i> .
4.	+ GREEN-RED	- GREEN	+ GREEN-RED	There is <i>Rotavirus</i> and <i>Astrovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Rotavirus</i> and <i>Astrovirus</i> .
5.	+ GREEN-RED	- GREEN	- GREEN	There is <i>Rotavirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Rotavirus</i> .
6.	- GREEN	+ GREEN-RED	+ GREEN-RED	There is <i>Adenovirus</i> and <i>Astrovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Adenovirus</i> and <i>Astrovirus</i> .
7.	- GREEN	+ GREEN-RED	- GREEN	There is <i>Adenovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Adenovirus</i> .
8.	- GREEN	- GREEN	+ GREEN-RED	There is <i>Astrovirus</i> presence. Viral infection caused by <i>Astrovirus</i> .
9.	Any other result			Invalid result either A, B or C, we recommend repeating the assay using the same sample with another test.

INVALID: Total absence of any control coloured line (GREEN) regardless the appearance or not of the test lines (RED). Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are mostly the main reasons for control lines failure. Review the procedure and repeat the assay with a new test. If the symptoms or situation still persist, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured bands in the test lines (T) in the results windows will vary depending on the concentration of antigens present in the specimen. However, neither the quantitative value nor the rate of increase in antigens can be determined by this qualitative test.

QUALITY CONTROL

Internal procedural controls are included in the test. The green lines appearing in the control lines (C) in the results windows are internal controls, which confirm sufficient specimen volume and correct procedural technique.

LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours after opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the diluent and repeat the test.
3. The intensity of test line may vary from very strong at high antigens concentration to faint when the antigens concentration is close to the detection limit value of the test.
4. After one week of infection, the number of viruses in faeces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples should be collected within one week of the onset of symptoms.
5. CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* should be used only with samples from human faeces. The use of other samples has not been established. The quality of the test depends on the quality of the sample; proper faecal specimens must be obtained.
6. Positive results determine the presence of *Rotavirus, Adenovirus* and/or *Astrovirus* in faecal samples; nevertheless, a positive result should be followed up with additional laboratory techniques to confirm the results. A confirmed infection should only be made by a physician after all clinical and laboratory findings have been evaluated and must be based in the correlation of the results with further clinical observations.
7. A negative result is not meaningful because of it is possible the antigens concentration in the stool samples is lower than the detection limit value. If the symptoms or situation still persist, a *Rotavirus, Adenovirus* and/or *Astrovirus* determination should be carried out with another technique.





CERTEST *Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

EXPECTED VALUES

Acute gastroenteritis is a common disorder in young children; moreover, the associated dehydration is a leading cause of admission to hospital in industrialized countries. Acute diarrhoea is a major health problem throughout the world and main source of mortality in developing countries. Enteric viruses have been recognized as the most significant etiological agents of the disease and yet, four categories of viruses are being considered clinically relevant: group A *Rotavirus* (family *Reoviridae*), *Norovirus* (family *Caliciviridae*), *Adenovirus* and *Astrovirus*. Several studies proved co-infections in infants 46% with acute watery diarrhoea.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical sensitivity and specificity

An evaluation, with faecal samples, was performed using an immunochromatographic test (CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*, CerTest) and these results were compared with a commercial available test (Ridascreen®*Rotavirus* ELISA Test, r-Biopharm) for *Rotavirus*, another commercial ELISA assay (Ridascreen®*Astrovirus*, r-Biopharm) for *Astrovirus* and the results for *Adenovirus* were confirmed using PCR. The results were as follows:

		Ridascreen® <i>Rotavirus</i> ELISA Test		
		+	-	Total
IC Test: CerTest <i>Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus</i> (<i>Rotavirus</i>)	+	18	1	19
	-	0	43	43
	Total	18	44	62

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Rotavirus</i>) vs Ridascreen® <i>Rotavirus</i> ELISA Test	>99%	98%	>94%	>99%

		PCR		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Adenovirus</i>)	+	7	0	7
	-	0	52	52
	Total	7	52	59

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Adenovirus</i>) vs PCR	>99%	>99%	>99%	>99%



CERTEST *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

		Ridascreen®Astrovirus Test		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Astrovirus</i>)	+	16	0	16
	-	1	11	12
Total		17	11	28

	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Astrovirus</i>) vs Ridascreen®Astrovirus Test	>94%	>99%	>99%	>92%

The results showed a high sensitivity and specificity to detect *Rotavirus, Adenovirus* and *Astrovirus* using CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*.

Cross reactivity

An evaluation was performed to determine the cross reactivity of CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*; no cross reactivity against gastrointestinal pathogens occasionally present in faeces:

<i>Adenovirus</i> (Strip A and C)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Astrovirus</i> (Strip A and B)	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Norovirus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Rotavirus</i> (Strip B and C)	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterovirus</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest *Rotavirus+ Adenovirus+Astrovirus* combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de *Rotavirus*, *Adenovirus* y *Astrovirus* en muestras de heces.

CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por *Rotavirus*, *Adenovirus* y/o *Astrovirus*.

INTRODUCCIÓN

Rotavirus, *Adenovirus* y *Astrovirus* son los agentes más frecuentes causantes de gastroenteritis en niños y jóvenes, también han sido detectados en adultos. Estos virus se transmiten por contacto feco-oral. Los principales síntomas de gastroenteritis vírica son diarrea acuosa y vómitos. También puede presentarse dolor de cabeza, fiebre y dolor de estómago. Por lo general, los síntomas comienzan 1 ó 2 días después de infectarse y pueden durar desde 1 hasta 10 días, dependiendo del virus causante de la enfermedad (3 días para *Rotavirus*, 5-8 días para *Adenovirus* y 3 días para *Astrovirus*).

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la determinación de *Rotavirus*, *Adenovirus* y *Astrovirus* en muestras de heces.

Tira A consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Rotavirus* en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Rotavirus*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Adenovirus* en la línea de test (T), de la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Adenovirus*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira C consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Astrovirus* en la línea de test (T), de la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos de la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Astrovirus*) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es *Rotavirus* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Rotavirus*-microesferas rojas de látex) en la tira A, si la muestra es *Adenovirus* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Adenovirus*-microesferas rojas de látex) en la tira B, y si la muestra es *Astrovirus* positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Astrovirus*-microesferas rojas de látex) en la tira C, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Rotavirus* presentes en la membrana de la tira A (línea de test), los anticuerpos anti-*Adenovirus* presentes en la membrana de la tira B (línea de test) y los anticuerpos anti-*Astrovirus* presentes en la membrana de la tira C (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá en las tres tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de *Rotavirus*, ni de *Adenovirus* ni de *Astrovirus* o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se produce reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Rotavirus*, anti-*Adenovirus* y anti-*Astrovirus* presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerán las líneas rojas.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, en las tres tiras, la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en las tres membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán. La aparición de estas líneas se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

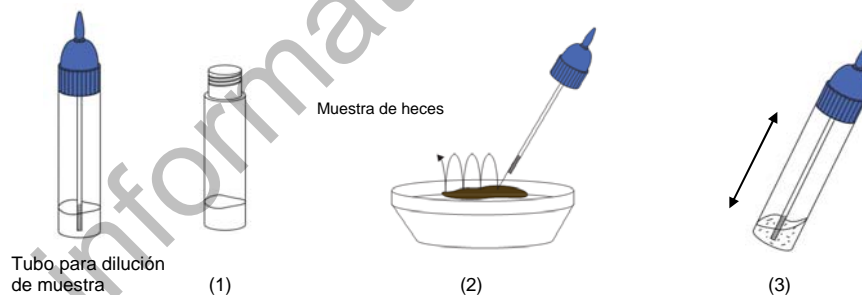
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se pueden conservar en frío (2-8°C), durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogenizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadida aprox. 125µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* combo card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

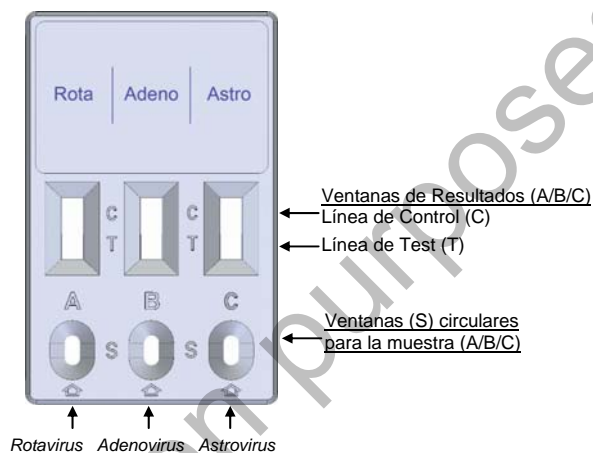
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los tests, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

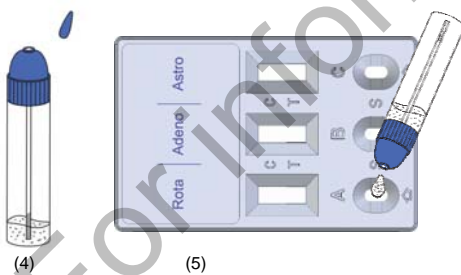
1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra A (5), con el mismo tubo, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra B (6) y con el mismo tubo, añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra C (7), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



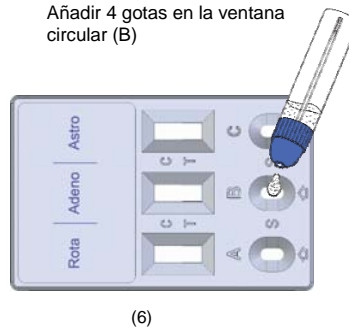
Procedimiento para la tira A de Rotavirus

Añadir 4 gotas en la ventana circular (A)



Procedimiento para la tira B de Adenovirus

Añadir 4 gotas en la ventana circular (B)



Procedimiento para la tira C de Astrovirus

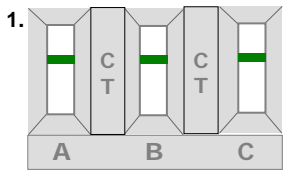
Añadir 4 gotas en la ventana circular (C)



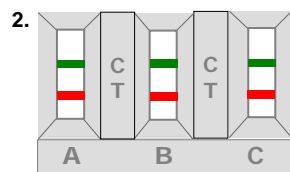
CERTEST Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus

One Step test to detect Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus en formato cassette

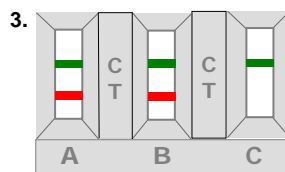
INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)



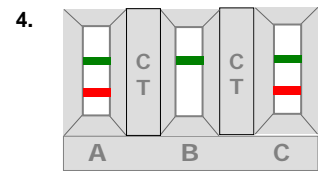
A: Verde→Negativo Rotavirus
B: Verde→Negativo Adenovirus
C: Verde→Negativo Astrovirus



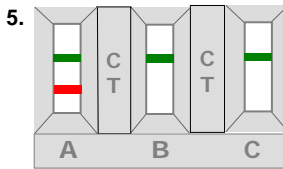
A: Verde/Rojo→Positivo Rotavirus
B: Verde/Rojo→Positivo Adenovirus
C: Verde/Rojo→Positivo Astrovirus



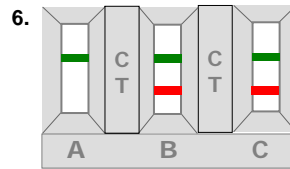
A: Verde/Rojo→Positivo Rotavirus
B: Verde/Rojo→Positivo Adenovirus
C: Verde→Negativo Astrovirus



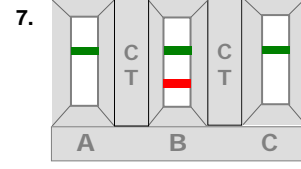
A: Verde/Rojo→Positivo Rotavirus
B: Verde→Negativo Adenovirus
C: Verde/Rojo→Positivo Astrovirus



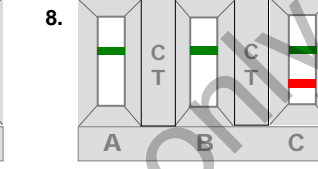
A: Verde/Rojo→Positivo Rotavirus
B: Verde→Negativo Adenovirus
C: Verde→Negativo Astrovirus



A: Verde→Negativo Rotavirus
B: Verde/Rojo→Positivo Adenovirus
C: Verde/Rojo→Positivo Astrovirus



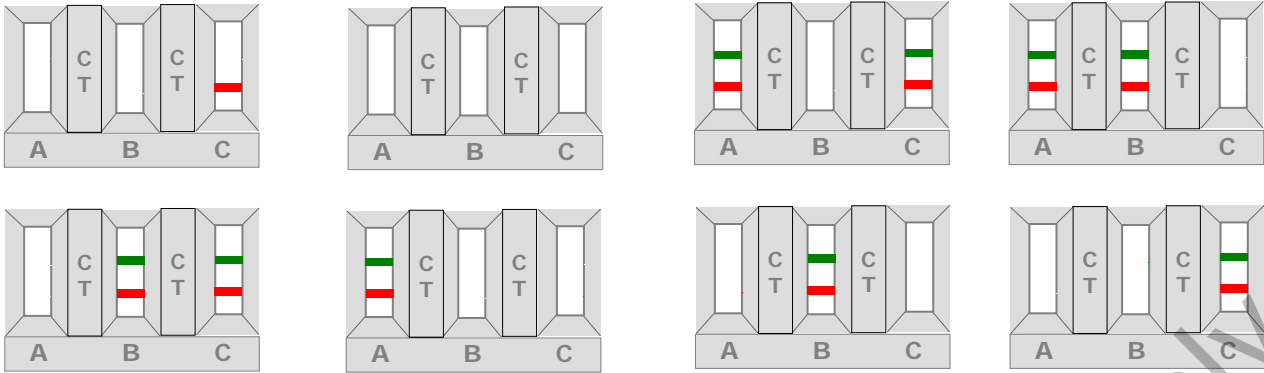
A: Verde→Negativo Rotavirus
B: Verde/Rojo→Positivo Adenovirus
C: Verde→Negativo Astrovirus



A: Verde→Negativo Rotavirus
B: Verde→Negativo Adenovirus
C: Verde/Rojo→Positivo Astrovirus

RESULTADOS INVÁLIDOS





	A (<i>Rotavirus</i>)	B (<i>Adenovirus</i>)	C (<i>Astrovirus</i>)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	- VERDE	No hay presencia de <i>Rotavirus, Adenovirus</i> o <i>Astrovirus</i> . No hay infección vírica causada por <i>Rotavirus, Adenovirus</i> ni <i>Astrovirus</i> .
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Rotavirus, Adenovirus</i> y <i>Astrovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Rotavirus, Adenovirus</i> y <i>Astrovirus</i> .
3.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Hay presencia de <i>Rotavirus</i> y <i>Adenovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Rotavirus</i> y <i>Adenovirus</i> .
4.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Rotavirus</i> y <i>Astrovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Rotavirus</i> y <i>Astrovirus</i> .
5.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	- VERDE	Hay presencia de <i>Rotavirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Rotavirus</i> .
6.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Adenovirus</i> y <i>Astrovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Adenovirus</i> y <i>Astrovirus</i> .
7.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Hay presencia de <i>Adenovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Adenovirus</i> .
8.	- VERDE	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Astrovirus</i> . Hay infección vírica causada por <i>Astrovirus</i> .
9.	Cualquier otro resultado			Cualquier resultado inválido en A, en B o en C: se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

INVÁLIDO: Cuando alguna línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en las líneas de test (T) en las ventanas de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.



CERTEST *Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea de test puede variar desde muy fuerte a alta concentración de antígenos a débil cuando la concentración de antígenos está cerca del valor del límite de detección del test.
- Después de una semana de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
- CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Rotavirus, Adenovirus y/o Astrovirus* en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio para confirmar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de *Rotavirus, Adenovirus y/o Astrovirus* se debería realizar con otra técnica.

VALORES ESPERADOS

La gastroenteritis aguda es un trastorno frecuente en niños pequeños, siendo la deshidratación que lleva asociada la principal causa de ingreso hospitalario en los países industrializados. La diarrea aguda es un problema de salud importante en todo el mundo y también una de las causas principales de mortalidad en los países en vías de desarrollo. Los virus entéricos han sido reconocidos como los agentes etiológicos más importantes de la enfermedad y estas cuatro categorías de virus están siendo considerados como los más relevantes clínicamente: el grupo A de *Rotavirus* (familia *Reoviridae*), *Norovirus* (familia *Caliciviridae*), *Adenovirus* y *Astrovirus*. En varios estudios, se ha demostrado la existencia de co-infecciones en el 46% de los niños con diarrea acuosa aguda.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, con un test inmunocromatográfico (CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*, CerTest) y estos resultados fueron comparados con los resultados obtenidos por un test comercializado (Ridascreen®*Rotavirus* ELISA Test, r-Biopharm) para *Rotavirus*, otro ensayo ELISA (Ridascreen®*Astrovirus*, r-Biopharm) para *Astrovirus* y los resultados para *Adenovirus* fueron confirmados con PCR. Los resultados se muestran a continuación:

IC Test: CerTest <i>Rotavirus+</i> <i>Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Rotavirus</i>)	Ridascreen® <i>Rotavirus</i> ELISA Test		
	+	-	Total
+	18	1	19
-	0	43	43
Total	18	44	62

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Rotavirus</i>) vs Ridascreen® <i>Rotavirus</i> ELISA Test	>99%	98%	>94%	>99%



CERTEST *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*

One Step test to detect *Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus* en formato cassette

		PCR		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Adenovirus</i>)	+	7	0	7
	-	0	52	52
Total		7	52	59

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Adenovirus</i>) vs PCR	>99%	>99%	>99%	>99%

		Ridascreen®Astrovirus Test		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Astrovirus</i>)	+	16	0	16
	-	1	11	12
Total		17	11	28

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</i> (<i>Astrovirus</i>) vs Ridascreen®Astrovirus Test	>94%	>99%	>99%	>92%

Los resultados mostraron que CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus* presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus*.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de test CerTest *Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus*; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Adenovirus</i> (Tira A y C)	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Astrovirus</i> (Tira A y B)	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Norovirus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Rotavirus</i> (Tira B y C)	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Enterovirus</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>













CERTEST *Rotavirus+ Adenovirus+ Astrovirus*

One Step test to detect Rotavirus, Adenovirus and Astrovirus in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de Rotavirus, Adenovirus y Astrovirus en formato cassette

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. CUKOR G., and BLACKLOW N. R., "Human Viral Gastroenteritis", Microbiological Reviews, Vol. 48 No 2, June 1984, pp. 157-179.
2. ESTES, M. K. and COHEN, J.; "Rotavirus Gene Structure and Function", Microbiological Reviews, Vol. 53 No 4, Dec. 1989, pp. 410-449.
3. PAI C. H., SHAHRABADI M. S., and INCE B., "Rapid Diagnosis of Rotavirus Gastroenteritis by a Commercial Latex Agglutination Test", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 22 No 5, Nov. 1985, pp. 846-850.
4. CUKOR, G., PERRON, D.M., and BLACKLOW, N. R.: "Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody", Journal of Clinical Microbiology, Vol. 19, 888-892.
5. NEEL K. KRISHNA, B.A, "Identification of Structural Domains Involved in Astrovirus Capsid Biology", Viral Immunol. 2005; 18(1): 17-26.
6. BON, F. et al. "Prevalence of group A Rotavirus, human calicivirus, Astrovirus type 40 and 41 infections among children with acute gastroenteritis in Dijon, France." J. Clin. Microbiol. 37 No 9 3055-3058 (1999).

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>	 Keep dry Almacenar en lugar seco	 Use by Fecha de caducidad	 Manufacturer Fabricante	 LOT	Batch code Número de lote
 Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso	 Temperature limitation Limitación de temperatura	 Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	 DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	 REF	Catalogue number Número de referencia



For information purposes only



For information purposes only



For information purposes only



CerTest
BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, Nº 1,
50840, San Mateo de Gállego, Zaragoza (SPAIN)
www.certest.es

