ProSpecT Rotavirus Mikrotiterplatten-Assay

DE

REF R240396 .....96 Tests

1 ANWENDUNGSBEREICH

Beim ProSpecT™ Rotavirus-Test handelt es sich um einen qualitativen Enzymimmunoassay für den Nachweis des Rotavirus (Gruppe A) in humanen Stuhlproben, der zur Diagnose akuter Gastroenteritis infolge einer Infektion mit dem Gruppe-A-Rotavirus dient.

2 ZUSAMMENFASSUNG

Rotaviren sind nicht behüllte RNA-Viren ikosaedrischer Symmetrie, die aus einer kugelförmigen Corestruktur und zwei äußeren Kapsidhüllen bestehen[1]. Innerhalb der Gattung des Rotavirus wurden mindestens sieben Serogruppen (A bis G) identifiziert[1,2].

Die humanen Serotypen des Gruppe-A-Rotavirus gelten weltweit als Hauptursache für Gastroenteritiserkrankungen bei Kleinkindern[3,4,5,6,7]. Die rotavirus-induzierte Gastroenteritis tritt auch bei älteren Kindern und bei älteren Menschen auf[8,9,10]. Das Virus wird häufig mit Nosokomialinfektionen in Kinder- und Neugeborenenstationen in Verbindung gebracht. Ausbrüche können zu einer Verlängerung des Krankenhausaufenthalts und der Behandlung von infizierten Kindern führen[11,12,13]. Bei unterernährten oder immuninkompetenten Kindern kann die rotavirus-induzierte Gastroenteritis schwere und sogar lebensbedrohliche Formen annehmen[8,9,10].

Die Labordiagnose von Rotavirus-Infektionen spielt eine wichtige Rolle bei der Patientenversorgung und ermöglicht ein effizientes Management und eine wirksame Kontrolle von Epidemien. Da die humanen Serotypen des Rotavirus nicht ohne weiteres in Zellkulturen gezüchtet werden können, lassen sie sich nur schwer in klinischen Proben isolieren[14]. Daher ist man für die Labordiagnose von Rotavirus-Infektionen auf den direkten Nachweis des Virus oder der viralen Antigene in Stuhlproben angewiesen. Dieser Nachweis ist mit Elektronenmikroskopie möglich, die RNA des Rotavirusgenoms lässt sich dagegen mittels Polyacrylamidgel- oder Gelelektrophorese nachweisen[3,15,16,17]. Diese Verfahren sind technisch sehr anspruchsvoll und erfordern einen komplexen Versuchsaufbau, was die Anwendung dieser Verfahren einschränkt[14].

Für den direkten Nachweis des Rotavirus in klinischen Proben wurden zahlreiche Methoden eingesetzt, darunter Enzymimmunoassays, Latexagglutination und immunchromatographische Tests auf der Basis von spezifischen monoklonalen oder polyklonalen Antikörpern[18,19,20,21]. Diese Methoden ermöglichen den schnellen, empfindlichen und spezifischen Nachweis des Rotavirus in Stuhlproben. Eine weitere Charakterisierung der Stämme ist mit Hilfe der reversen Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (RT-PCR) möglich, dieses Verfahren kommt jedoch im Allgemeinen nicht zum Einsatz[22].

Beim ProSpecT Rotavirus-Test handelt es sich um einen Immunoassay für den Nachweis von Gruppe-A-Rotaviren in Stuhlproben. Für den Nachweis gruppenspezifischer Proteine, die in Gruppe-A-Rotaviren vorkommen, einschließlich des größten Proteins im inneren Kapsid (VP6), wird ein polyklonaler Antikörper eingesetzt.

3 TESTPRINZIP

Der ProSpecT Rotavirus-Test arbeitet zur Detektion gruppenspezifischer Antigene, die in Gruppe-A-Rotaviren vorkommen, mit einem polyklonalen Antikörper in einem Sandwich-Enzymimmunoassay fester Phase. Die abbrechbaren Vertiefungen sind mit einem rotavirus-spezifischen polyklonalen Antikörper beschichtet. Eine Stuhlsuspension oder eine Kontrollprobe wird in die Vertiefung gegeben und gleichzeitig mit einem rotavirus-spezifischen polyklonalen Antikörper inkubiert, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist. Das in der Probe vorliegende Rotavirus-Antigen wird zwischen dem Antikörper in der festen Phase und dem enzymkonjugierten Antikörper eingefangen. Nach 60 Minuten Inkubation bei Raumtemperatur werden die Vertiefungen mit Waschpuffer in Arbeitskonzentration gewaschen, um überschüssige Probe und ungebundenen enzymmarkierten Antikörper zu entfernen. Es wird ein Chromogen in die Vertiefungen gegeben und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubiert. Die Gegenwart eines spezifisch gebundenen, enzymmarkierten Antikörpers in den Vertiefungen führt zu einer Farbänderung, die durch die Zugabe von Säure gestoppt wird. Eine Farbintensität, die sich deutlich von der Hintergrundfärbung unterscheidet, zeigt die Gegenwart des Rotavirus-Antigens in der Probe oder Kontrolle an.

4 SYMBOLDEFINITIONEN

REF	Katalognummer
IVD	*In-vitro*-Diagnostikum
Σ	Inhalt ausreichend für <n> Tests
i	Gebrauchsanweisung beachten
8°C 2°C	Temperaturbeschränkung (Lagertemp.)
LOT	Chargennummer (Losnummer)
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Hersteller
DILUTED SAMPLE	Verdünnte Probe

5 INHALT DES KITS, VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND LAGERUNG

Der ProSpecT Rotavirus Mikrotiterplatten-Assay enthält genügend Reagenzien für die Durchführung von Σ 96 Tests.
Siehe auch die **Vorsichtsmaßnahmen** in Abschnitt **6**.

Das Verfallsdatum des Kits ist auf dem Verpackungsetikett vermerkt.

Alle Komponenten bei 2 - 8 °C lagern.

Vor dem Gebrauch alle Reagenzien auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) bringen und vorsichtig mischen. Unverbrauchte Reagenzien im Kühlschrank aufbewahren.

Mit Ausnahme des Waschpuffers werden die Reagenzien in der erforderlichen Konzentration geliefert. Die Reagenzien können direkt von den Tropfflaschen getropft oder zwecks Verwendung mit einer Mehrkanalpipette pipettiert werden. Zuviel ausgeschüttetes Reagenz muss entsorgt werden. Zuviausgeschüttetes Reagenz nicht wieder in die Flasche füllen.

i

Gebrauchsanweisung
Vollpipetten
Teststreifenhalterung und Abdeckung
Inhaltszertifikat
Kurzanleitung

MICROTITRATION PLATE

Mikrotiterplatte* (8 Vertiefungen/ Streifen)

12 Teststreifen (abbrechbare Teststreifen mit 8 Vertiefungen), die mit einem rotavirus-spezifischen polyklonalen Antikörper von Kaninchen beschichtet sind. Für die Lagerung ungenutzter Vertiefungen liegt ein wiederverschließbarer Beutel mit Trockenmittel bei. Die Teststreifen können nach dem ersten Öffnen 16 Wochen lang verwendet werden, vorausgesetzt, sie werden fachgerecht im Beutel aufbewahrt.

CONJUGATE

Enzymkonjugat*

Eine Tropfflasche mit 12 ml rotavirus-spezifischem polyklonalem Antikörper von Kaninchen, der mit Meerrettich-Peroxidase konjugiert ist, in einer gepufferten Proteinlösung mit antimikrobiellem Mittel und blauem Farbstoff.

CONTROL +

Positivkontrolle*

Eine Tropfflasche mit 4 ml inaktiviertem Rinder-Rotavirus in Puffer mit antimikrobiellem Mittel.

CONTROL –

Negativkontrolle*

Eine Tropfflasche mit 4 ml Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit rotem Farbstoff und antimikrobiellem Mittel.

SAMPLE DILUENT

Probenverdünnungspuffer

Eine Flasche mit 120 ml Tris-gepufferter Kochsalzlösung mit rotem Farbstoff und antimikrobiellem Mittel.

WASH BUFFER (x10)

Waschpuffer

Eine Flasche mit 120 ml einer (10fach) konzentrierten phosphatgepufferten Lösung mit antimikrobiellem Mittel und Detergenz.

Das 10fach-Waschpufferkonzentrat durch die Zugabe von 1 Teil Konzentrat auf 9 Teile destilliertes oder deionisiertes Wasser auf einfache Stärke verdünnen. Der verdünnte Waschpuffer ist bei Lagerung bei 2 - 8 °C 30 Tage lang stabil.

SUBSTRATE TMB

Farbsubstrat

Eine Tropfflasche mit 12 ml 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) in Puffer.

Das Farbsubstrat sollte in der lichtgeschützten Flasche, in der es geliefert wird, aufbewahrt und daraus ausgegeben werden. Wenn aus einem beliebigen Grund ein Aliquot aus der Flasche entnommen wird, das unbenutzte Farbsubstrat nicht wieder in die ursprüngliche Flasche füllen.

STOP SOLUTION

Stopplösung

Eine Tropfflasche mit 12 ml Schwefelsäure (0,46 mol/l).

***Hinweis:** Die Reagenzien von Kits verschiedener Chargennummern dürfen nicht vertauscht werden.

6 VORSICHTSMASSNAHMEN

IVD

Reagenzien nur für den *in-vitro*-diagnostischen Gebrauch.

Nur für die professionelle Verwendung.

Informationen zu potenziell gefährlichen Komponenten dem Sicherheitsdatenblatt oder der Produktkennzeichnung entnehmen.

GESUNDHEITS- UND SICHERHEITSINFORMATIONEN

6.1 Die Positivkontrolle enthält inaktiviertes Rinder-Rotavirus, das sich in Zellkulturen als nicht infektiös erwiesen hat. Die Kontrolle muss jedoch als potenziell infektiöses Material gehandhabt und entsorgt werden.

6.2 Der Waschpuffer enthält Hautreizstoffe (<1 % v/v). Hautkontakt vermeiden. Einweg-Schutzhandschuhe aus Vinyl oder Nitril tragen.

6.3 Essen, Trinken, Rauchen, Aufbewahren und Zubereiten von Speisen sowie Schminken sind im entsprechend ausgewiesenen Arbeitsbereich verboten.

6.4 Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren.

6.5 Beim Umgang mit klinischen Proben und Reagenzien Einweghandschuhe tragen. Nach dem Arbeiten mit infektiösen Materialien immer die Hände waschen.

6.6 Alle klinischen Proben müssen entsprechend den geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgt werden.

6.7 Die ProSpecT Rotavirus-Reagenzien enthalten ein herstellerspezifisches antimikrobielles Mittel, das bei Beachtung der normalen Sicherheitsvorkehrungen für das Arbeiten im Labor keine Gefahr für den Anwender darstellt.

ANALYTISCHE VORSICHTSMASSNAHMEN

6.8 Die Testkit-Komponenten dürfen nach Ablauf des auf den Etiketten vermerkten Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Die folgenden Reagenzien dürfen nicht gemischt oder ausgewechselt werden, da dies die Leistungsfähigkeit des Tests beeinträchtigen könnte: Platte, Konjugat und Kontrollen.

6.9 Die folgenden allgemeinen Reagenzien können in der ProSpecT-Serie produktübergreifend verwendet werden: Waschpuffer, TMB-Substrat und Stopplösung.

6.11 Bei Verwenden von Tropfflaschen sicherstellen, dass alle Kontrollen und Reagenzien auf die gleiche Art und Weise zugesetzt werden. (Die Leistungsfähigkeit des Kits kann beeinträchtigt werden, wenn eine Kombination aus Pipettierverfahren und Tropfflasche eingesetzt wird.)

6.12 Für jede einzelne Probe, Kontrolle und Reagenz frische Einmalpipetten oder Pipettenspitzen benutzen (falls keine Tropfflasche verwendet wird), um Kreuzkontaminationen von Proben, Kontrollen oder Reagenzien zu vermeiden. Kreuzkontaminationen könnten falsche Ergebnisse hervorrufen.

6.13 Um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden, ist zum Verdünnen von Reagenzkonzentraten genutztes deionisiertes oder destilliertes Wasser in sauberen Behältern aufzubewahren.

6.14 Kontamination mit Metallionen und Oxidationsmitteln vermeiden.

6.15 Das Farbsubstrat ist lichtempfindlich. Wenn das Reagenz Licht ausgesetzt wird und Farbe entwickelt, muss es entsorgt werden.

6.16 Die Vertiefungen dürfen nicht wiederverwendet werden.

6.17 Nicht verbrauchter Waschpuffer in Arbeitskonzentration kann bei 2 - 8 °C maximal 30 Tage lang für den zukünftigen Gebrauch gelagert werden. Nicht benötigte Waschpuffergefäße mit deionisiertem oder destilliertem Wasser waschen und trocknen lassen.

6.18 Waschvorrichtungen, einschließlich automatischer Geräte, dürfen nicht mikrobiell kontaminiert sein. Sie müssen korrekt geeicht sein und entsprechend den Herstelleranleitungen gehandhabt werden.

6.19 Bei der Verwendung von Tropfflaschen die Flasche vertikal halten, so dass die Öffnung etwa 5 mm über der Vertiefung steht. Die Flasche **vorsichtig** drücken und sicherstellen, dass die Tropfen ungehindert in die Vertiefungen fallen können, ohne dabei die Seiten der Vertiefungen zu berühren. Ein Kontamination der Tropferöffnungen ist stets zu vermeiden.

7 GEWINNUNG VON STUHLPROBEN

Stuhlproben sollten nach dem Einsetzen der Symptome so früh wie möglich entnommen werden.

Die Ausscheidung des Rotavirus im Stuhl erreicht bei Gastroenteritispatienten etwa 3 bis 5 Tage nach dem Einsetzen der Symptome den Spitzenwert[5].

Stuhlproben für direkte Tests sind in Behälter zu geben, die kein Medium, keine Konservierungsmittel, tierischen Seren, Metallionen, Oxidationsmittel oder Detergenzien enthalten, da alle diese Zusatzstoffe den ProSpecT Rotavirus-Test beeinträchtigen können.

Falls Rektalabstriche gewonnen werden, müssen diese genügend Stuhlmaterial enthalten, um eine 10%ige Stuhlsuspension zu erhalten (siehe **Abschnitt 8**).

Proben können vor dem Test 8 Tage lang bei 2 - 8 °C gelagert werden. Die Langzeitlagerung von Stuhlproben ist bei -20 °C möglich.

8 TESTVERFAHREN

IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

Siehe **Inhalt des Kits** in Abschnitt **5**

ERFORDERLICHE, JEDOCH NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENES MATERIALIEN

Behälter für die Entnahme von Stuhlproben
Saubere Einwegbehälter mit Schraubverschluss (mindestens 3 ml Fassungsvermögen) für die Vorbereitung von Stuhlproben
Sauberes saugfähiges Papier (zum Abklopfen der Mikrotiterplatten)
Präzisions-Mikropipetten mit Einwegspitzen für 50 µl, 100 µl und 1000 µl
Abfallbehälter mit geeignetem frischem Desinfektionsmittel
Stoppuhr
Waschflasche für Waschpuffer
Destilliertes oder deionisiertes Wasser
Lesegerät für Mikrotiterplatten für den Betrieb bei 450 nm (optional mit einer Referenz bei 620 bis 650 nm)

OPTIONALE MATERIALIEN (NICHT MITGELIEFERT)

Vortexmischer mit Plattenadapter oder Plattenschüttler/ Inkubator
Waschautomat für Mikrotiterplatten oder geeignete Ausrüstung für das Waschen von Teststreifen mit 8 Vertiefungen

TESTVERFAHREN

8.1 Den Beutel öffnen, die erforderliche Anzahl von Teststreifen entnehmen und in einen Teststreifenhalter geben. Eine Vertiefung für die Negativkontrolle und eine weitere für die Positivkontrolle verwenden. Wenn weniger als 8 Vertiefungen benötigt werden, die erforderliche Anzahl von Vertiefungen abbrechen und die nicht benötigten Vertiefungen wieder in den Beutel mit Trockenmittel geben. DEN BEUTEL WIEDER FEST VERSCHLIESSEN, UM DEN INHALT VOR FEUCHTIGKEIT ZU SCHÜTZEN UND WIEDER BEI 2 - 8 °C LAGERN.

VERDÜNNUNG DER STUHLPROBEN

1 ml Probenverdünnung in einen entsprechend gekennzeichneten Behälter geben und damit eine 10%ige Suspension oder Verdünnung der Stuhlprobe herstellen, indem etwa 0,1 g fester Stuhl (kleine erbsengroße Portion) oder etwa 100 µl flüssiger Stuhl mit einer Vollpipette hinzugegeben wird. Gründlich mischen und die Vollpipette für den weiteren Gebrauch im Behälter lassen.
Rektalabstriche in 1 ml Probenverdünnung drehen und den Abstrich dabei gegen die Behälterwand drücken, um das Stuhlmaterial herauszudrücken. Gründlich mischen.
Zuvor in Formalin konservierte Stuhlsuspensionen vor dem Test mit ProSpecT Rotavirus-Probenverdünnung auf eine 10%ige Stuhlsuspension verdünnen.
Mit ProSpecT Rotavirus-Probenverdünnung suspendierte bzw. verdünnte Proben können vor dem Test bei 2 - 8 °C bis zu 8 Tage lang gelagert werden.
HINWEIS: Mit ProSpecT Astrovirus, ProSpecT Adenovirus und ProSpecT Norovirus Probenverdünnung vorbereitete Stuhlproben können auch mit dem ProSpecT Rotavirus-Assay getestet werden. Andere Probenverdünnungen wurden nicht auf ihre Eignung geprüft.

8.2 Jeweils 2 Tropfen (oder 100 µl) verdünnte Probe, Negativkontrolle oder Positivkontrolle in unterschiedliche Vertiefungen geben. In jede Testreihe sollte mindestens eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle eingeschlossen werden.

8.3 Nachdem alle Proben und Kontrollen hinzugefügt wurden, in jede Vertiefung 2 Tropfen (oder 100 µl) Konjugat geben.

8.4 Die Platte abdecken und die Vertiefungen bei 20 - 30 °C 60 ± 5 Minuten lang inkubieren.

8.5 Den Inhalt durch Schütteln oder Absaugen aus den Vertiefungen entfernen. Alle Vertiefungen mit verdünntem Waschpuffer (~350 bis 400 µl pro Vertiefung) gründlich waschen. Die gesamte Flüssigkeit nach dem Waschen durch Schütteln oder Absaugen aus den Vertiefungen entfernen. Insgesamt 5 Mal waschen. Den Inhalt der Platte nach dem letzten Waschvorgang durch Ausklopfen auf sauberem Papier oder Absaugen entfernen. Bei Verwendung eines Waschautomaten diesen auf 5 Waschzyklen programmieren. Waschautomaten müssen richtig kalibriert sein, um sicherzustellen, dass die Vertiefungen bei jedem Waschvorgang vollständig gefüllt und entleert werden. Die Platte nach dem letzten Waschvorgang umdrehen und auf saugfähigem Papier abklopfen, um Reste des Waschpuffers zu entfernen.

8.6 2 Tropfen (oder 100 µl) Substrat in jede Vertiefung geben.

8.7 Die Platte abdecken und die Vertiefungen bei 20 - 30 °C 10 Minuten lang inkubieren.

8.8 Die Substratreaktion stoppen, indem 2 Tropfen (oder 100 µl) Stopplösung in jede Vertiefung gegeben werden. Darauf achten, dass die Vertiefungen vor dem Ablesen der Ergebnisse gründlich gemischt werden. Die Färbung ist nach der Zugabe der Stopplösung 30 Minuten lang stabil.

8.9 Spektrophotometrisch bei 450 nm auswerten (siehe Abschnitte **9** und **10**).

9 QUALITÄTSKONTROLLE

Bei jeder Testausführung muss mindestens eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle eingeschlossen werden.

SPEKTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG

Der Wert der Negativkontrolle oder der Mittelwert aus den Werten der Negativkontrolle darf nicht mehr als 0,150 Absorptionseinheiten betragen.

Der Wert der Positivkontrolle muss über 0,500 Absorptionseinheiten liegen.

10 ERGEBNISSE

SPEKTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG

10.1 Die Vertiefungen müssen innerhalb von 30 Minuten nach der Zugabe von Stopplösung photometrisch ausgewertet werden.

10.2 Den Inhalt der Vertiefungen mischen und die Absorption jeder Vertiefung spektrophotometrisch bei 450 nm bestimmen. Vor der Messung sicherstellen, dass der Boden der Vertiefungen sauber ist. Vor der Messung der Platte einen Leerwert gegen Luft bestimmen.

10.3 Wenn das Spektrophotometer die Messung einer Referenzwellenlänge (zwischen 620 und 650 nm) ermöglicht, ist eine Messung an zwei Wellenlängen durchzuführen.

10.4 Den Cut-off-Wert berechnen, indem der Wert der Negativkontrolle oder der Mittelwert aus mehreren Negativkontrollen um 0,200 Absorptionseinheiten erhöht wird.

10.5 Die Testergebnisse auswerten:

Positiv:	Absorptionswert der klinischen Probe > Cut-off-Wert
Negativ:	Absorptionswert der klinischen Probe < Cut-off-Wert
Nicht eindeutig:	Absorptionswert der klinischen Probe liegt 0,010 Absorptionseinheiten ober-/ unterhalb des Cut-off-Werts. Diese Proben müssen neu getestet oder vom Patienten neu entnommen werden.

11 GRENZEN DER METHODE

11.1 Die Gültigkeit der Ergebnisse, die mit dem ProSpecT Rotavirus Mikrotiterplatten-Assay erhalten werden, hängt vom Verlauf der Kontrollreaktionen ab. Siehe **Qualitätskontrolle** in Abschnitt **9**.

11.2 Durch ein negatives Ergebnis kann die Möglichkeit einer Rotavirusinfektion im Patienten nicht ausgeschlossen werden. Wenn das Rotavirus nicht nachgewiesen werden kann, gibt es dafür mehrere mögliche Ursachen. Dazu gehören die Entnahme der Probe zu einem falschen Zeitpunkt, wenn zu wenige Virionen vorhanden sind, Fehler bei der Probenahme und/oder unsachgemäße Handhabung der Proben.

11.3 Der ProSpecT Rotavirus-Test dient zum Nachweis gruppenspezifischer Virusproteine, die in den humanen Serotypen des Gruppe-A-Rotavirus vorkommen. Der Test kann nicht zur Unterscheidung der Serotypen von Gruppe-A-Rotaviren oder zum Nachweis anderer Rotavirus-Serogruppen (B bis G) verwendet werden.

11.4 Alle Reagenzien werden in festgelegten Arbeitskonzentrationen geliefert. Die Leistung des Tests kann beeinträchtigt werden, wenn die Reagenzien modifiziert oder unter anderen als den in Abschnitt **5** beschriebenen Bedingungen falsch gelagert werden.

11.5 Der Einsatz des ProSpecT Rotavirus Mikrotiterplatten-Assays für direkte Tests an anderen Proben als Stuhlproben wird nicht empfohlen, da die Gegenwart unzureichender Antigenmengen oder eine fehlerhafte Probenahme zu falsch negativen Ergebnissen führen kann. Ein positives Ergebnis in Stuhlproben weist in Verbindung mit Durchfall mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine rotavirale Gastroenteritis hin.

11.6 Durch ein positives Ergebnis kann die Gegenwart anderer enterischer Pathogene nicht ausgeschlossen werden. Währen die Verbindung zwischen dem Rotavirus und Gastroenteritis als gesichert gilt, ist eine gleichzeitige Infektion mit anderen mikrobiellen Krankheitserregern möglich.

11.7 Mekoniumproben wurden für den Gebrauch mit dem ProSpecT Rotavirus-Test nicht untersucht.

11.8 Die Testergebnisse müssen in Verbindung mit epidemiologischen, klinischen und anderen diagnostischen Daten für den Patienten ausgewertet werden.

12 ERWARTETE WERTE

Die Positivitätsrate ist abhängig von der Prävalenz des Rotavirus in den verschiedenen Populationen, der geographischen Lage, Probennahme sowie der Handhabung, Lagerung und dem Transport der Proben. Auch die allgemeine Gesundheitsversorgung der untersuchten Patientenpopulation ist diesbezüglich von Bedeutung[11,12,13,21].

Das Rotavirus ist die häufigste Ursache für Gastroenteritis bei Kindern im Alter von 6 Monaten bis 3 Jahren und wird für 30 bis 50 % der Diarrhöerkrankungen bei hospitalisierten Kindern und Kleinkindern verantwortlich gemacht. Das Rotavirus wird zudem mit Diarrhö-Epidemien in geriatrischen Populationen oder Einrichtungen in Verbindung gebracht[20].

13 LEISTUNGSDATEN

KLINISCHE STUDIEN

Der ProSpecT Rotavirus-Test wurde in klinischen Studien evaluiert, die in drei Zentren in Großbritannien durchgeführt wurden. Als Probenmaterial für die Studien dienten Stuhlproben von Gastroenteritispatienten. Die mit dem ProSpecT Rotavirus-Test erhaltenen Ergebnisse wurden mit Elektronenmikroskopie (EM) und einem handelsüblichen Enzymimmunoassay (EIA) für den direkten Nachweis des Rotavirus in Stuhlproben verglichen.

Insgesamt wurden 201 Stuhlproben untersucht. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 13.1 zusammengefasst.

KLINISCHE LEISTUNG

Der ProSpecT Rotavirus-Test zeigte bei der photometrischen Auswertung eine Korrelation von 99,5 % (200/201) mit Elektronenmikroskopie und 99,0 % (199/201) mit einem handelsüblichen Enzymimmunoassay. Sensitivität und Spezifität des ProSpecT Rotavirus-Tests lagen beim Vergleich mit Elektronenmikroskopie insgesamt bei jeweils 100 % (77/77) und 99,2 % (123/124). Die relative Sensitivität und relative Spezifität betrugen beim Vergleich mit dem handelsüblichen Enzymimmunoassay jeweils 98,7 % (77/78) und 99,2 % (122/123) (siehe Tabelle 13.1). Die selben Proben wurden auch visuell ausgewertet. Die Ergebnisse dieser Auswertung sind in Tabelle 13.2 aufgeführt.

Tabelle 13.1 Vergleich des ProSpecT Rotavirus-Test (photometrische Auswertung) mit Elektronenmikroskopie (EM) und Enzymimmunoassay (EIA)

METHODE		EM		EIA	
		+	-	+	-
ProSpecT Rotavirus	+	77	1	77	1
	-	0	123	1	122
Sensitivität		100 %		98,7 %	
95 % Konfidenzintervalle		(95 %-100 %)		(93 %-100 %)	
Spezifität		99,2 %		99,2 %	
95 % Konfidenzintervalle		(96 %-100 %)		(96 %-100 %)	
Korrelation		99,5 %		99,0 %	
95 % Konfidenzintervalle		(97 %-100 %)		(96 %-100 %)	

Tabelle 13.2 Vergleich des ProSpecT Rotavirus-Test (visuelle Auswertung) mit Elektronenmikroskopie (EM) und Enzymimmunoassay (EIA)

METHODE		EM		EIA	
		+	-	+	-
ProSpecT Rotavirus	+	77	2	77	2
	-	0	122	1	121
Sensitivität		100 %		98,7 %	
95 % Konfidenzintervalle		(95 %-100 %)		(93 %-100 %)	
Spezifität		98,4 %		98,4 %	
95 % Konfidenzintervalle		(94 %-100 %)		(94 %-100 %)	
Korrelation		99,0 %		98,5 %	
95 % Konfidenzintervalle		(96 %-100 %)		(96 %-100 %)	

PRÄZISION

Intra-Assay-Präzision

Die Intra-Assay-Präzision wurde anhand von Positiv- und Negativkontrollen sowie drei Stuhlproben bestimmt. Jede Kontrolle und Probe wurde in einem einzelnen Assay 32 Mal getestet und es wurde der Mittelwert und der Variationskoeffizient (VK) berechnet (n=32).

Tabelle 13.4 Intra-Assay-Präzision des ProSpecT Rotavirus-Tests

Probenstatus	Mittlere AE	VK (%)
Negativkontrolle	0,06	4,8
Positivkontrolle	1,67	4,9
Negative Stuhlprobe	0,05	4,8
Positive Stuhlprobe	0,39	6,0
Positive Stuhlprobe	1,04	7,3

Inter-Assay-Präzision

Die Inter-Assay-Präzision wurde anhand von Positiv- und Negativkontrollen sowie drei Stuhlproben bestimmt. Jede Kontrolle und Probe wurde in 38 verschiedenen Assays getestet, die von drei Bedienern durchgeführt wurden, und es wurden die mittleren Absorptionswerte und der Variationskoeffizient berechnet (n=38).

Tabelle 13.5 Inter-Assay-Präzision des ProSpecT Rotavirus-Tests

Probenstatus	Mittlere AE	VK (%)
Negativkontrolle	0,06	5,6
Positivkontrolle	1,43	9,9
Negative Stuhlprobe	0,06	7,8
Positive Stuhlprobe	0,41	8,1
Positive Stuhlprobe	1,10	8,5

Kreuzreaktivität

Die folgenden Mikroorganismen wurden mit dem ProSpecT Rotavirus-Test negativ getestet. Es wurden Kreuzreaktivitätstests durchgeführt, entweder an klinischen Proben, deren mikrobieller Status bekannt war oder an Laborkulturen bekannter Organismen, die ungefähr 10^7-10^8 lebensfähige Organismen pro ml enthielten. Die Herkunft der Mikroorganismen ist im Schlüssel unten angegeben:

Viren

Adenovirus 1, 2, 3, 5, 40, 41[a]	Astrovirus[a]
Coronavirus[a]	
Coxsackie-Virus B2, B3, B4, B5[a]	
Echovirus 9, 11, 18, 22, 32[a]	Enterovirus[a]
	Picornavirus[a]

Poliovirus, Typ 1, 2 und 3[a] (Impfstämme)
SRSV (kleine Viren mit Rundstruktur)[a] (einschließlich Calicivirus)

Bakterien

Aeromonas sp.	*Bacillus cereus*
Campylobacter spp.[d]	*Clostridium difficile (Toxin)*
Clostridium perfringens (Toxin)[a]	*Clostridium spp.*[c]
Corynebacterium sp.	*Escherichia coli*
Enteropathogene E. coli	*Enterotoxinogene E. coli*
Lactobacillus spp.	*Legionella spp.*[c]
Listeria monocytogenes	*Plesiomonas shigelloides*
Pseudomonas aeruginosa	*Salmonella agona*
Salmonella enteritidis	*Salmonella typhimurium*
Salmonella virchow[a]	*Shigella dysenteriae*
Shigella flexneri[a]	*Shigella sonnei*[d]
Staphylococcus aureus (Cowan-Stamm, der Protein A bildet)	
Streptococcus der Gruppe A	*Vibrio alginolyticus*
Vibrio cholerae	*Vibrio haemolyticus*

Protozoen

Cryptosporidium sp.[a]
Entamoeba histolytica[a]
Giardia lamblia[a]

Andere Mikroorganismen

Candida albicans[c]
Pneumocystis carinii[b]
Trichuris trichiura[a]

Schlüssel:

[a] Im Stuhl vorliegende und getestete Mikroorganismen
[b] Biopsiematerial
[c] Auf festen Kulturmedien gezüchtete Mikroorganismen
[d] Mikroorganismen, die sowohl in Stuhl als auch in Bouillonkultur getestet wurden

Alle anderen Mikroorganismen wurden in Bouillonkultur getestet.

LITERATURVERWEISE

1. **van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R. and Wickner R.b., (2000)** Virus Taxonomy. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. pp 421-433
2. **Estes M.K. and Cohen J. (1989)** Rotavirus Gene Structure and Function Microbiological Reviews 53: 410-419
3. **Bishop R.F., Davidson G.P., Holmes I.H. and Ruck B.J, (1974)** Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis Lancet i: 149-151
4. **Kapikian A.Z., Yolken R.H., Greenberg H.B., Wyatt R.G., Kalica A.R., Chanock R.M. and Kim H.W. (1980)** Gastroenteritis viruses. In Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections. 5th Ed., Lennette E.H., Schmidt N.J., Eds. Amer Pub. Health Assoc., Washington D.C. pp 927-996
5. **Flewett T.H. and Woode G.N. (1978)** The Rotaviruses Archives of Virology, 57: 1-23
6. **Steinhoff M.C. (1980)** Rotavirus: The first five years Journal of Pediatrics, 96: 611-622
7. **Blacklow N.R. and Cukor G. (1981)** Viral Gastroenteritis. New England Journal of Medicine, 304: 397-406
8. **Wenman W.M., Hinde D., Feltham S. and Gurwith M. (1979)** Rotavirus infection in Adults: Results of a Prospective Study New England Journal of Medicine, 301: 303-306
9. **Cubitt W.D. (1982)** Rotavirus infection: An Unexpected Hazard in Units caring for the Elderly Geriatric Medicine Today, 1: 33-88
10. **Marrie T.J., Spencer H.S., Faulkner R.S., Ethier J. and Young C.H. (1982)** Rotavirus Infection in a Geriatric population. Archives of Internal Medicine, 142: 313-316
11. **Brandt C.D., Kim H.W., Rodriguez W.J et al. (1983)** Paediatric viral gastroenteritis during eight years of study Journal of Clinical Microbiology, 18: 71-78
12. **Brandt C.D., Parrot R.H., Kim H.W. and Rodriguez W.J. (1984)** Diarrhoea viruses: detection, specific identification, and epidemiology In Medical Virology III (eds. I. de la Maza and E. Peterson) Elsevier New York pp 35-68
13. **Kapikian A.Z. and Chanock R.M. (1985)** Rotaviruses. In Virology (eds B.N. Fields et al) Raven Press New York pp 863-906

14. **Martin A.L. and Follet A.C. (1987)**
An assessment of the sensitivity of three methods for the detection of rotavirus
Journal of Virological Methods, 16: 39-44

15. **Kalica A.R., Purcell R.H., Sereno M.M. et al (1977)**
A microtitre solid phase radioimmunoassay for detection of human reovirus like agent in stools
Journal of Immunology, 118: 1275-1279

16. **Herring A.J., Inglis N.F., Ojeh C. et al (1982)**
Rapid diagnosis of rotavirus infection by direct detection of viral nucleic acid in silverstained polyacrylamide gels
Journal of Clinical Microbiology, 16: 473-477

17. **Pyndiah N., Beguin R., Richard J., Charles M., Rey A. and Bonifas V. (1988)**
Accuracy of rotavirus diagnosis: Modified genome electrophores is versus electron microscopy
Journal of Virological Methods, 20: 39-44

18. **Grauballe P.C., Vestergaard B.F., Meyling A. and Genner J. (1981)**
Optimised enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of human and bovine rotavirus in stools: comparison with electron microscopy, immunoelectrophoresis, and fluorescent antibody techniques
Journal of Medical Virology, 7: 29-40

19. **Coulson B.S. and Holmes I.H. (1984)**
An Improved Enzyme Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates
Journal of Virolology Methods, 8: 165-179

20. **Cukor G., Perron D.M., Hudson R. and Blacklow N.R. (1984)**
Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody.
Journal of Clinical Microbiology, 19: 888-892

21. **Herrmann J.E., Blacklow N.R., Perron D.M., Cukor G., Krause P.J., Hyams J.S., Barrett H.J. and Ogra P.L. (1985)**
Monoclonal Antibody Enzyme Immunoassay for Detection of Rotavirus in Stool Specimens
Journal of Infectious Disease, 152: 830-832

22. **Centres for Disease Control and Prevention (2007)**
Rotavirus (Cause of Diarrhea)

ProSpecT™ ist eine eingetragene Marke

Oxoid Ltd Wade Road Basingstoke Hants,
RG24 8PW UK

IFU X7596C Überarbeitet April 2012

Für technische Unterstützung wenden Sie sich bitte an Ihren Händler.