

Enterovirus MonlabTest®



MO-804014 20 TESTS

IVD

One step test to detect Enterovirus antigens in human feces

A rapid, one step test for the qualitative detection of Enterovirus antigens (VP1 peptide) in human feces.
Only for professional *in vitro* diagnostic use.

INTENDED USE

Enterovirus MonlabTest® is a rapid chromatographic immunoassay for the qualitative detection of VP1 peptide of Enterovirus antigens in human feces specimens to aid in the diagnosis of enterovirus.

SYNTHESIS

Enteroviruses consist of *Poliovirus*, *Coxsackievirus*, *Echovirus*, and numbered *Enterovirus*. Enteroviruses are single-stranded RNA viruses. Enteroviruses can cause a wide spectrum of diseases in humans. All enteroviruses are transmitted by the fecal-oral route, but clinical outcomes may go beyond gastroenteritis, as some viruses travel from the intestinal tract to other organs. *Poliovirus* usually infects their host by attacking the central nervous system and cause paralysis in victims (poliomyelitis). *Coxsackievirus* has been associated with not only respiratory system infections and gastroenteritis but also insulin-dependent diabetes and heart diseases, such as myocarditis and pericarditis. *Echovirus* is generally less infectious than other enteroviruses and are usually associated with the common cold and respiratory diseases. The numbered enteroviruses (*Enterovirus* types 68 to 71) have not been studied extensively but have been isolated from patients with bronchiolitis, conjunctivitis, meningitis, and paralysis resembling poliomyelitis. Enterovirus MonlabTest® provides a rapid detection of Enteroviruses directly from the fecal samples.

PRINCIPLE

Enterovirus MonlabTest® is a qualitative immunoassay for the detection of VP1 peptide of Enterovirus antigens in human feces samples. The membrane is pre-coated with antibodies against Enterovirus antigens on the test line region. During testing, the sample reacts with the particle coated with anti-VP1 peptide, antibodies which were pre-dried on the test strip. The mixture moves upward on the membrane by capillary action. In the case of a positive result the specific antibodies present on the membrane will react with the mixture conjugates and generate one or two coloured lines. A green coloured band always appears in the control line (third line) and serves as verification that sufficient volume was added, that proper flow was obtained and as an internal control for the reagents.

PRECAUTIONS

- For professional *in vitro* diagnostic use only.
 - Do not use after expiration date.
 - The test should remain in the sealed pouch until use.
 - Do not use the test if pouch is damaged.
 - Follow Good Laboratory Practices, wear protective clothing, use disposal gloves, do not eat, drink or smoke in the area.
 - All the specimens should be considered potentially hazardous and handled in the same manner as an infectious agent.
 - The test should be discarded in a proper biohazard container after testing.
- The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.

STORAGE AND STABILITY

Store as packaged in the sealed pouch either at refrigerated or room temperature (2-30°C/36-86°F). The test is stable through the expiration date printed on the sealed pouch. The test must remain in the sealed pouch until use. Do not freeze.

MATERIALS PROVIDED

- 20 Test
- Instruction for use
- 20 Specimen collection vial with buffer
- 1 Control -: negative swab + testing tube + pipette
- 1 Control +: positive swab + testing tube + pipette

MATERIALS REQUIRED BUT NO PROVIDED

- Specimen collection container
- Disposable gloves
- Timer

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Collect sufficient quantity of feces (1-2 g or mL for liquid sample). Stool samples should be collected in clean and dry containers (no preservatives or transport media). The samples can be stored in the refrigerator (2-4°C) for 1-2 days prior to testing. For longer storage the specimen must be kept frozen at -20°C/-4°F. In this case, the sample will be totally thawed, and brought to room temperature before testing.

PROCEDURES

To process the collected stool samples (see illustration 1):

Use a separate specimen collection vial for each sample with 1 mL of the buffer. Unscrew the cap of the vial and introduce the stick two times into the faecal specimen to pick up a little of sample (125 mg). Close the vial with the buffer and stool sample. Shake the vial in order to assure good sample dispersion. For liquid stool samples, aspirate the faecal specimen with a dropper and add 125µL into the specimen collection vial with buffer.

Test Procedure (see illustration 2)

Allow the tests, stool samples and buffer to reach to room temperature (15-30°C/59-86°F) prior to testing. Do not open pouches until ready to perform the assay.

1. Remove the Enterovirus MonlabTest® from its sealed pouch and use it as soon as possible.
2. Shake the specimen collection vial to assure good sample dispersion. Break off the tip of the vial.
3. Use a separate device for each sample. Dispense exactly 4 drops into the specimen well (S). Start the timer.
4. Read the result at **10 minutes** after dispensing the sample.

Illustration 1

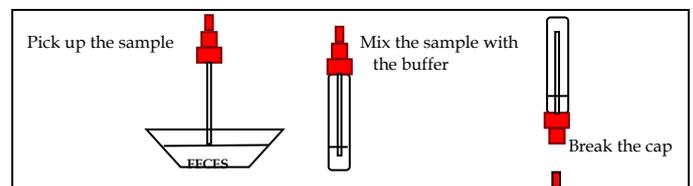
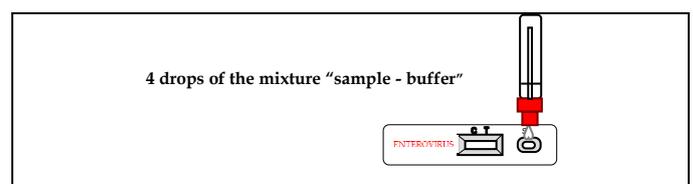


Illustration 2



INTERPRETATION OF RESULTS

Illustration 3



POSITIVE: Two lines appears across the central window. In the result line region, a **red** test line marked in the illustration 3 with the letter T, and in the control line region, a **green** control line marked in the illustration 3 with the letter C.

NEGATIVE: Only one **green** band appears across the control line region marked with the letter C at the illustration 3 (control line).

INVALID: Total absence of the **green** control coloured band regardless the appearance or not of the **red** test line. See illustration 3. Note: Insufficient specimen volume, incorrect procedural techniques or deterioration of the reagents are the most likely reasons for control line failure. Review the procedure and repeat the test with a new test. If the problem persists, discontinue using the test kit and contact your local distributor.

NOTES ON THE INTERPRETATION OF RESULTS

The intensity of the red coloured band in the result line region (T) will vary depending on the concentration of antigens 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:

- A green line appearing in the control line region (C). It confirms sufficient specimen volume and correct procedural technique.

External Quality Control

Each kit contains a positive and negative control material. Use the control swabs to check that the extraction reagents and the test are working properly. Also use the controls to test that you are able to correctly perform the test procedure.

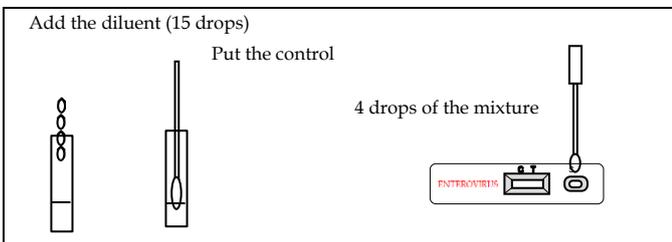
Quality Control Procedure:

Enterovirus Positive control: Remove the *Enterovirus* positive control from its sealed pouch. Add the diluent (15 drops) in a testing tube. Put the *Enterovirus* positive control swab, mix 60 seconds and extract as much liquid possible from the swab. Discard the swab. Remove the test from its sealed pouch and dispense 4 drops of the positive control liquid into the specimen well (S).

Result: *Enterovirus* positive (see interpretation of results).

Enterovirus Negative control: Repeat the procedure for Negative Swab Control using the Reagent Control (-) instead the Reagent Control (+)

Result: *Enterovirus* negative (see interpretation of results).



LIMITATIONS

1. The test must be carried out within 2 hours of opening the sealed bag.
2. An excess of sample could cause wrong results (brown bands appear). Dilute the sample with the buffer and repeat the test.
3. After one month of infection, the number of viruses in feces is decreasing, making the sample less reactive. Stool samples could be collected previously to the onset of symptoms or also at 24-48 hours.
4. This test provides a presumptive diagnosis for *Enterovirus* infections. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.
5. This test provides a presumptive diagnosis for *Enterovirus* infections. All results must be interpreted together with other clinical information and laboratory findings available to the physician.

EXPECTED VALUES

Enteroviral infections are more prevalent in children than in adults. Enteroviral infections in humans are reported to peak in summer and early autumn, which also coincides with increased water recreational activities and water contact.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Sensitivity and specificity

It was performed an evaluation using *Enterovirus* Device and all of them were confirmed by IDEIA *Enterovirus* assay (Dako) and IMAGEN™ *Enterovirus* (Oxoid). The results showed >99% of sensitivity and >99% of specificity.

The antibodies used to elaborate this test recognise *Enterovirus* epitopes found in stool patients.

Cross-Reactivity

It was performed an evaluation to determine the cross reactivity of *Enterovirus* MonlabTest®. There is not cross reactivity with common intestinal parasites occasionally present in feces: Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Hepatitis A.

REFERENCES

1. FONG, T. et al. "Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, June 2005, Vol. 69, No. 2: p. 357-371.
2. AFFFI, S. et al. "Isolation and Identification of Non-Polio Enteroviruses from Children in Different Egyptian Governorates", *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2009, Vol. 3, No. 4: pp. 3230-3238.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS

	Manufacturer		For <i>in vitro</i> diagnostic use only
	Don't re-use		Consult instructions for use
	Contains sufficient for <n> tests		Keep dry
	Catalogue Code		Temperature limitation
	Lot Number		Use by

Enterovirus MonlabTest®



MO-804014 20 TESTS

IVD

Test rápido para la detección de antígenos de Enterovirus

Test rápido para la detección cualitativa de antígenos de Enterovirus en muestras de heces humanas.
Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

USO PREVISTO

Enterovirus MonlabTest® es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa de antígeno VP1 péptido de Enterovirus en muestras de heces como ayuda en el diagnóstico de infecciones por enterovirus.

RESUMEN

Poliovirus, coxsakievirus, echovirus y enterovirus numerados pertenecen a los enterovirus. Enterovirus están formados por virus RNA de cadena simple. Los Enterovirus pueden causar un amplio abanico de enfermedades en humanos. Todos los Enterovirus son transmitidos vía feco-oral, pero puede provocar síntomas más allá de los gastrointestinales, ya que algunos virus traspasan el tracto intestinal hacia otros órganos. Poliovirus normalmente infectan a su hospedador atacando al sistema nervioso central y causan parálisis en el paciente (poliomielitis). Coxsackievirus han sido relacionados también con diabetes insulina-dependiente y enfermedades del corazón, como miocarditis y pericarditis, además de las comunes infecciones del sistema respiratorio y gastroenteritis. Ecovirus normalmente suelen ser menos infecciosos que otros enterovirus y suelen asociarse con enfriamientos comunes y enfermedades respiratorias. Los enterovirus numerados (enterovirus tipos 68 a 71) no han sido ampliamente estudiados pero han sido aislados de pacientes con bronquiolitis, conjuntivitis, meningitis y parálisis semejante a poliomielitis. Enterovirus MonlabTest® proporciona una rápida detección de Enterovirus, directamente de muestras de heces.

PRINCIPIOS

Enterovirus MonlabTest® es un inmunoensayo cualitativo para la determinación del péptido VP1 de Enterovirus a partir de muestras de heces. Se incluyen previamente en la membrana anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos de Enterovirus en la zona de la línea del test.

Durante la prueba, la muestra reacciona con el conjugado de partículas coloreadas que contienen anticuerpos monoclonales de ratón anti-péptido VP1, previamente añadido en la tira reactiva. Este complejo avanza por capilaridad a través de la membrana del test. Para dar el resultado como positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana reaccionarán con el complejo y se mostrará una línea de color en la zona de resultados de la membrana. La ausencia de esta línea sugiere un resultado negativo. Independientemente de que haya presencia o no del virus, la mezcla de conjugado va avanzando por la membrana hasta la región de control donde se han inmovilizado anticuerpos y siempre aparecerá una línea de color VERDE (línea de control). La aparición de esta línea se utiliza para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, que el flujo ha sido el apropiado y como control interno de los reactivos.

PRECAUCIONES

- Únicamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar tras la fecha de caducidad.
- El test debe estar en su envase sellado hasta el momento de usarlo.
- No utilizar el test si el envase se encuentra dañado.

- Cumplir con las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, no comer, ni beber o fumar en la zona de realización del ensayo.
- Todas las muestras deben ser consideradas como potencialmente peligrosas y manipuladas de la misma forma que si se tratase de un agente infeccioso.
- El test debería desecharse en un contenedor de residuos sanitarios tras su utilización.
- La prueba debería ser realizada durante las dos horas posteriores a la apertura del envase.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El test debe almacenarse en su envase sellado refrigerado o a temperatura ambiente (2-30°C/36-86°F). El test se conservará intacto hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No conviene congelar.

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO PROPORCIONADO
<ul style="list-style-type: none"> - 20 Tests - Instrucciones de uso - 20 Viales de muestra con diluyente - 1 Control -: hisopo negativo + tubo de plástico+ pipeta - 1 Control +: hisopo positivo + tubo de plástico+ pipeta 	<ul style="list-style-type: none"> - Envase para la toma de muestras - Guantes desechables - Cronómetro

TOMA DE MUESTRA Y PREPARACIÓN

Tomar suficiente cantidad de muestra de heces (1-2g o mL para muestras líquidas). Las muestras de heces deberían ser almacenadas en un envase limpio y seco (sin conservantes o medios de transporte). Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-4°C/36-40°F) durante 1-2 días antes de usarse. Para una conservación más larga deberían congelarse a -20°C/-4°F. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

PROCEDIMIENTO

Para procesar la muestra de heces (ver dibujo 1):

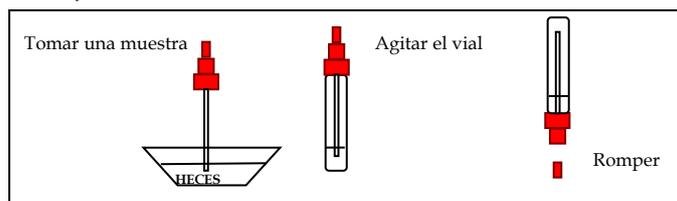
Utilice un vial para muestra de diluyente diferente para cada muestra (con 1mL de diluyente). Introduzca el stick dos veces en la muestra de heces para tomar suficiente cantidad de muestra (125mg). Cierre el vial con el tampón y la muestra. Agítelo para asegurar una buena dispersión. Para muestras líquidas, utilice una pipeta y añada 125µL en el vial para muestra con diluyente.

Procedimiento (ver dibujo 2)

Antes de realizar la prueba los test, muestras y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de realizar el ensayo.

1. Sacar Enterovirus MonlabTest® de su envase sellado y usarlo tan pronto como sea posible.
2. Agitar el vial con la muestra para asegurarse de una buena dispersión. Romper la parte de arriba del vial.
3. Usar un test diferente para cada muestra. Dispensar 4 gotas en el pocillo de muestra (S). Poner en marcha el cronómetro.
4. Leer el resultado a los **10 minutos** tras dispensar la muestra.

Dibujo 1



Dibujo 2



INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Dibujo 3



POSITIVO: Dos líneas en la zona central de la ventana, en la zona de resultados, una línea **roja** llamada línea del test Enterovirus marcada con la letra T en el dibujo 3, y en la zona de control una línea **verde**, línea de control marcada con la letra C en el dibujo 3.

NEGATIVO: Únicamente una línea de color **verde** se verá en la zona de control marcada con la letra C (llamada línea de control).

INVALIDO: Ausencia total de la línea de control de color **verde**, a pesar de que aparezca o no la línea **roja** en la zona de resultados. Nota: un volumen insuficiente de muestra, un procedimiento inadecuado o un deterioro de los reactivos podrían ser la causa de la no aparición de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo test. Si el problema persiste, deje de utilizar los tests y contacte con su distribuidor.

NOTAS DE AYUDA EN LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La intensidad de la línea roja de la zona de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno que se encuentre en la muestra. Sin embargo, esta prueba cualitativa no puede determinar ni la cantidad ni el incremento de antígenos presentes en las muestras.

CONTROL DE CALIDAD

Existe un control interno del procedimiento incluido en el test:

- La línea verde que aparece en la zona de control (C). Esta línea confirma que el volumen añadido de muestra ha sido suficiente y que el procedimiento ha sido el adecuado.

Control de calidad externo

Cada kit contiene un control positivo y un control negativo. Utilice los controles para el comprobar que los reactivos de extracción y el test funcionan correctamente. Utilice también los controles para comprobar que se ha realizado de forma correcta el procedimiento del test.

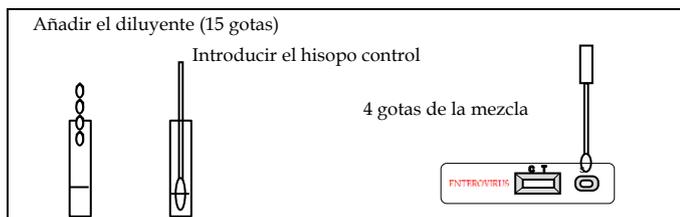
Procedimiento de Control de Calidad:

Control positivo Enterovirus: sacar el control positivo Enterovirus de su envase. Añadir el diluyente (15 gotas) en un tubo de ensayo. Poner el hisopo de control positivo de Enterovirus, mezclar 60 segundos y extraer el máximo líquido posible del hisopo. Desechar el hisopo. Sacar de su envase el test y dispensar 4 gotas del líquido control positivo en la zona de muestra marcada con una S.

Resultado: Enterovirus positivo (ver interpretación resultados).

Control negativo Enterovirus: Repetir el procedimiento con el hisopo de Control Negativo utilizando Reactivo Control (-) en vez de Reactivo Control (+).

Resultado: Enterovirus negativo (ver interpretación resultados).



LIMITACIONES

- Una vez abierto, el dispositivo no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados negativos, dando líneas no muy definidas de color pardo que no tienen ningún valor diagnóstico.
- Después de un mes de infección la presencia de virus eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se puede tomar la muestra de heces antes de aparecer los síntomas y tras 24-48 horas ya se detectaría como positivo.
- Esta prueba diagnostica una posible infección por algún virus del grupo enterovirus, situación que debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, teniendo en cuenta las pruebas clínicas y de laboratorio evaluadas y también debería determinarse el serotipo de enterovirus implicado.
- Si el paciente ha sido vacunado recientemente (por ejemplo frente a poliovirus) podría dar un resultado positivo.

VALORES ESPERADOS

Las infecciones enterovirales presentan una prevalencia mayor en niños que en adultos. Estas infecciones en humanos suelen mostrar el pico de infección durante el verano y principio del otoño, coincidiendo con el aumento de las actividades acuáticas de recreo y el contacto con el agua.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad y especificidad

Se estudiaron 35 muestras de heces usando Enterovirus y todas las muestras fueron evaluadas mediante IDEIA Enterovirus assay (Dako) and IMAGENTM Enterovirus (Oxoid). Los resultados mostraron >99% de sensibilidad y >99% de especificidad. Los anticuerpos usados para la elaboración de este test reconocen epítomos antigénicos que se encuentran en las heces de los pacientes evaluados.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar la reacción cruzada de Enterovirus MonlabTest®. No hay reacción cruzada con varios virus patógenos intestinales que están presentes en heces: Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Hepatitis A.

BIBLIOGRAFÍA

- FONG, T. et al. "Enteric Viruses of Humans and Animals in Aquatic Environments: Health Risks, Detection, and Potential Water Quality Assessment Tools". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, June 2005, Vol. 69, No. 2: p. 357-371.
- AFFFI, S. et al. "Isolation and Identification of Non-Polio Enteroviruses from Children in Different Egyptian Governorates", *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 2009, Vol. 3, No. 4: pp. 3230-3238.

SIMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad