

Una prueba rápida de un solo paso para la detección cualitativa de Adenovirus en heces humanas. Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro.

**[USO PREVISTO]**

El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de adenovirus en muestras de heces humanas para ayudar en el diagnóstico de la infección por adenovirus.

**[RESUMEN]**

La enfermedad diarreica aguda en los niños pequeños es una de las principales causas de morbilidad en todo el mundo y es una de las principales causas de mortalidad en los países en desarrollo. Las investigaciones han demostrado que los adenovirus entéricos, principalmente el Ad40 y el Ad41, son una de las principales causas de diarrea en muchos de estos niños, solo superados por los rotavirus 2,3,4,5. Se han aislado patógenos en todo el mundo y pueden causar diarrea en los niños durante todo el año. Las infecciones se observan con mayor frecuencia en niños menores de dos años, pero se han encontrado en pacientes de todas las edades. Otros estudios indican que los adenovirus están asociados con el 4-15% de todos los casos hospitalizados de gastroenteritis viral. 1,2,3,4,5 El diagnóstico rápido y preciso de la gastroenteritis por adenovirus es útil para establecer la etiología de la gastroenteritis y el tratamiento relacionado con el paciente. Otras técnicas de diagnóstico, como la microscopía electrónica (ME) y la hibridación de ácidos nucleicos, son caras y laboriosas. Con la naturaleza autolimitante de la infección por adenovirus, es posible que estas pruebas costosas y laboriosas no sean necesarias.

El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de adenovirus en muestras de heces humanas, que proporciona resultados en 10 minutos. La prueba utiliza anticuerpos específicos para adenovirus para detectar selectivamente adenovirus a partir de muestras de heces humanas.

**[PRINCIPIO]**

El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de adenovirus en muestras de heces humanas. En esta prueba, la membrana se recubre previamente con anticuerpo anti-adenovirus en la región de la línea de prueba de la prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula cubierta con anticuerpo anti-adenovirus. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-adenovirus en la membrana y generar una línea roja en la región de la línea de prueba. La presencia de esta línea roja en la región de la prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para que sirva como control de procedimiento, siempre aparecerá una línea roja en la región de la línea de control que indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

**[REACTIVOS]**

La prueba contiene partículas recubiertas de anticuerpos anti-adenovirus y anticuerpo anti-adenovirus anticuerpo recubierto en la membrana.

**[PRECAUCIONES]**

- Solo para uso profesional de diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- El casete de prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No coma, beba ni fume en el área donde se manipulan las muestras o los kits.
- No utilice la prueba si la bolsa está dañada.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observe las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como batas de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen las muestras.
- Las pruebas, muestras y materiales potencialmente contaminados usados deben desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

**[ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]**

Almacene tal como está empaquetado en la bolsa sellada, ya sea a temperatura ambiente o refrigerada (2-30 ° C). La prueba es estable hasta la fecha de vencimiento impresa en la bolsa sellada. La prueba debe permanecer en la bolsa sellada que contiene el desecante hasta su uso. NO CONGELAR. No lo use después de la fecha de vencimiento.

**[RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS]**

- La detección viral se mejora al recolectar las muestras al inicio de los síntomas.
- Se ha informado que la máxima excreción de adenovirus en las heces de los pacientes con gastroenteritis se produce de 3 a 13 días después del inicio de los síntomas. Si las muestras se recolectan mucho después del inicio de los síntomas diarreicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados pueden no estar relacionados con el episodio diarreico.
- La muestra de heces debe recogerse en un recipiente limpio, seco e impermeable que no contenga detergentes, conservantes ni medios de transporte.
- Deje que los reactivos necesarios alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.

**[MATERIALES]**
**Materiales proporcionados**

- Casetes de prueba
- Goteros
- Tubo de recogida de muestras con tampón de extracción
- Ficha técnica

**Materiales Requeridos pero no proporcionados**

- Recipientes de recogida de muestra
- Temporizador
- Centrifugar y pipetear para dispensar 80 µL si es necesario

**[INSTRUCCIONES DE USO]**

Deje que la prueba, la muestra, el tampón y / o los controles alcancen la temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de la prueba.

**1. Para recolectar muestras fecales:**

Recolecte una cantidad suficiente de heces (1-2 mL o 1-2 g) en una muestra limpia y seca.

recipiente de recogida para obtener suficientes partículas de virus. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recolección. Las muestras recolectadas pueden almacenarse durante 3 días a 2-8 ° C si no se analizan en 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 ° C.

**1. Para procesar muestras fecales:**

- Para muestras sólidas: Desenrosque la tapa del tubo de recolección de muestras, luego apuñale al azar el aplicador de recolección de muestras en la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 de un guisante). No saque la muestra fecal.
- Para muestras líquidas: Sostenga el gotero en posición vertical, aspire las muestras fecales y luego transfiera 2 gotas (aproximadamente 50 µL) al tubo de recolección de muestras que contiene el tampón de extracción.

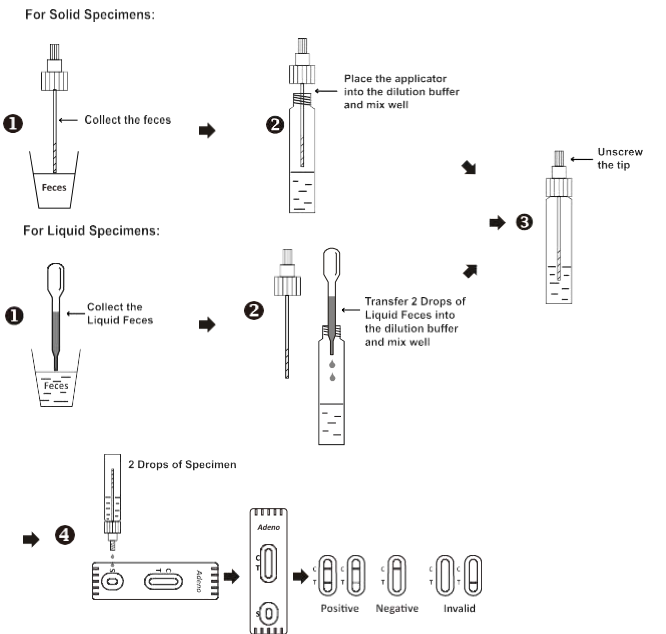
Apriete la tapa en el tubo de recolección de muestras, luego agite vigorosamente el tubo de recolección de muestras para mezclar la muestra y el tampón de extracción.

2. Deje que la bolsa alcance la temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba de la bolsa de aluminio y utilícelo dentro de una hora. Se obtendrán mejores resultados si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir la bolsa de aluminio.

3. Sostenga el tubo de recolección de muestras en posición vertical y desenrosque la punta del tubo de recolección de muestras. Invierta el tubo de recolección de muestras y transfiera 2 gotas completas de la muestra extraída (aproximadamente 80 L) al pocillo de la muestra (S) del casete de prueba, luego inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pocillo de la muestra (S). Vea la ilustración a continuación.

4. Lea los resultados a los 10 minutos después de dispensar la muestra. No lea los resultados después de 20 minutos.

Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra diluida contenida en el vial de tampón de extracción. Recoger 80 µL de sobrenadante, distribuir en el pocillo de la muestra (S). Inicie el temporizador y continúe desde el paso 5 en adelante en las instrucciones de uso anteriores.


**[INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS]**

(Consulte la ilustración anterior)

**POSITIVO:** \* Aparecen dos líneas rojas distintas. Una línea roja debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea roja aparente debe estar en la región de la línea de prueba (T).

\* NOTA: La intensidad del color en la región de la línea de prueba (T) variará según la concentración de antígeno de adenovirus presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

**NEGATIVO:** Aparece una línea roja en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T).

**NO VÁLIDO:** La línea de control (C) no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables de la falla de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit de prueba inmediatamente y comuníquese con su distribuidor local.

**[CONTROL DE CALIDAD]**

Se incluye un control de procedimiento interno en la prueba. Una línea roja que aparece en el control.

La región de línea (C) es un control de procedimiento positivo interno. Confirma una adecuada absorción de la membrana.

Los estándares de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el desempeño adecuado de la prueba.

**[LIMITACIONES]**

1. El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) es para uso diagnóstico in vitro únicamente.

La prueba debe usarse para la detección de Adenovirus en muestras de heces humanas únicamente. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de adenovirus pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.

2. El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) solo indicará la presencia de adenovirus en la muestra y no debe utilizarse como el único criterio para que el adenovirus conforme sea el agente etiológico de la diarrea.

3. Como ocurre con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.

4. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales con otros métodos clínicos. Un resultado negativo no excluye en ningún momento la posibilidad de infección por adenovirus con baja concentración de partículas víricas.

**[VALORES ESPERADOS]**

El casete de prueba rápida de adenovirus (heces) se ha comparado con el método de aglutinación de látex, lo que demuestra una precisión general de > 99,0%.

**[CARACTERÍSTICAS DE PRESENTACIÓN]**

Sensibilidad, especificidad y precisión clínicas

El rendimiento del casete de prueba rápida de adenovirus se ha evaluado con 244 muestras clínicas recogidas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método de aglutinación con látex. Los resultados muestran que la sensibilidad relativa del casete de prueba rápida de adenovirus (heces) es > 99,9% y la especificidad relativa es 99,5%.

**Casete de prueba rápida de adenovirus frente a aglutinación con látex**

Casete de prueba rápida de adenovirus	Metodo		Latex Agglutination		Resultados Totales
	Resultados	Positivo		Negativo	
		Positivo	Negativo		
	Positivo	60	1	61	
	Negativo	0	183	183	
	Resultados Totales	60	184	244	

Sensibilidad relativa: > 99,9% (95,1% -100,0%) \*

Especificidad relativa: 99,5% (97,0% -100,0%) \*

Precisión relativa: 99,6% (97,7% -100,0%) \*

\* Intervalos de confianza del 95%

**Intraensayo de precisión**

La precisión intra-corrída se ha determinado mediante el uso de 10 réplicas de cuatro muestras: a

negativo, positivo bajo, positivo medio y positivo alto. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Intersayo**

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 10 ensayos independientes en las mismas cuatro muestras: una negativa, una positiva baja, una positiva media y una positiva alta. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Reactividad cruzada**

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 10 x 10<sup>9</sup> organismos / ml. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se probaron con el casete de prueba rápida de adenovirus (heces).

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

**[BIBLIOGRAFIA]**

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. Wood, D. J. and A. S. Bailey. "Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens by Immune Electron Microscopy." Journal of Medical Virology, 1987; 21:191-199.
3. Nishio, Osamu, M. Ooseto, K. Takagi, Y. Yamasita, Y. Ishihara, and S. Isomura. "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Employing Monoclonal Antibodies for Direct Identification of Enteric Adenoviruses (Ad40, 41) in Feces." Microbiol. Immunol. 1990; 34(10): 871-877.
4. Wood, D. J., K. Bijlsma, J. C. de Jong, and C. Tonkin. "Evaluation of a Commercial Monoclonal Antibody-Based Enzyme Immunoassay for Detection of Adenovirus Types 40 and 41 in Stool Specimens." Journal of Clinical Microbiology, June 1989; 27(6): 1155-1158.
5. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. Book, B. Bone, L. Browne, and V. Mah. "The Utility of Latex Agglutination Assays in the Diagnosis of Pediatric Viral Gastroenteritis." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101:742-746.