

## Casete de prueba rápida combinada de Rotavirus y Adenovirus

( Heces )  
**Ficha técnica**

REF IRAC-C62    Español

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

### USO PREVISTO

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

### RESUMEN

La diarrea aguda en 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.<sup>1</sup> El rotavirus es el agente más común responsable de gastroenteritis aguda, principalmente en niños pequeños.<sup>2</sup> Su descubrimiento en 1973 y su asociación con La gastroenteritis infantil representó un avance muy importante en el estudio de la gastroenteritis no causada por una infección bacteriana aguda. El rotavirus se transmite por vía oral-fecal con un periodo de incubación de 1-3 días. Aunque las recolecciones de muestras tomadas dentro del segundo y quinto día de la enfermedad son ideales para la detección de antígenos, el rotavirus aún se puede encontrar mientras continúa la diarrea. La gastroenteritis por rotavirus puede provocar la mortalidad de poblaciones en riesgo, como los lactantes, los ancianos y los pacientes inmunodeprimidos.<sup>3</sup> En climas templados, las infecciones por rotavirus se producen principalmente en los meses de invierno. Se han reportado tanto endémicas como epidemias que afectaron a unos miles de personas.<sup>4</sup> En niños hospitalizados que padecían enfermedad entérica aguda, hasta el 50% de la muestra analizada resultó positiva para rotavirus.<sup>5</sup> Los virus se replican en el núcleo celular y tienden a ser específicos de la especie del hospedador produciendo un efecto citopático característico (CPE). Debido a que el rotavirus es extremadamente difícil de cultivar, es inusual utilizar el aislamiento del virus para diagnosticar una infección. En cambio, se han desarrollado una variedad de técnicas para detectar rotavirus en heces.

La investigación ha 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.<sup>6,7,8,9</sup> Estos patógenos virales se han aislado en todo el mundo y pueden causar diarrea en 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 un 4 a 15% de todos los casos hospitalizados de gastroenteritis viral.<sup>5,6,7,8,9</sup> 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 costosas 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 rotavirus/adenovirus (heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de rotavirus y adenovirus en muestras de heces humanas, que proporciona resultados en 10 minutos. La prueba utiliza anticuerpos específicos para rotavirus y adenovirus para detectar selectivamente rotavirus y adenovirus a partir de muestras de heces humanas.

### PRINCIPIO

El casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces) es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de rotavirus y adenovirus en muestras de heces humanas. En esta prueba, la membrana se recubre previamente con anticuerpo anti-rotavirus en la región de la línea R de la prueba y anticuerpo anti-adenovirus en la región de la línea de prueba A de la prueba. Durante la prueba, la muestra reacciona con la partícula recubierta con anticuerpo anti-rotavirus y anticuerpo anti-adenovirus. La mezcla migra hacia arriba en la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con el anticuerpo anti-rotavirus y el anticuerpo anti-adenovirus en la membrana y generar una línea roja (s) . La presencia de estas líneas rojas en la región de la línea de 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 se ha producido la absorción de la membrana.

### REACTIVOS

La prueba contiene partículas recubiertas de anticuerpos anti-rotavirus y anti-adenovirus y Anticuerpo anti-rotavirus y anticuerpo anti-adenovirus 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 descartarse
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados.

### ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

Almacenar tal como está empaquetado en las bolsas selladas ya sea a temperatura ambiente o refrigerado (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.

### SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- La detección viral se mejora al recolectar las muestras al inicio de los síntomas. Se ha informado que la máxima excreción de rotavirus y adenovirus en las heces de pacientes con gastroenteritis ocurre 3-5 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 Suministrados**
- Cassettes de prueba
  - Goteros
  - Tubos de recogida de muestras con tampón de extracción
  - Ficha técnica

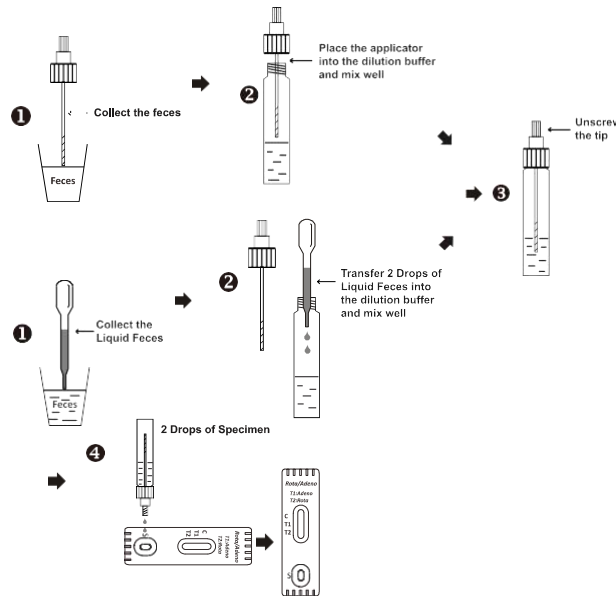
- Materiales Requeridos pero no suministrados**
- Recipientes de recogida de muestras
  - Cronómetro
  - Centrifugar y pipetear para sustituir 80 µL si es necesario

### INSTRUCCIONES DE USO

Deje que el casete de prueba, la muestra y el tampón alcancen la temperatura ambiente (15-30 ° C) antes de realizar la prueba.

- Para recolectar muestras fecales:  
 Recoja una cantidad suficiente de heces (1-2 ml o 1-2 g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco 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.
- Para procesar muestras fecales:
  - Para **Muestras sólidas**:  
 Desenrosque la tapa del tubo de recolección de muestras, luego **apúñale 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 y luego **agite vigorosamente el tubo de recolección de muestras** para mezclar la muestra y el tampón de extracción.
- 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.
- 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 µL) al pocillo de la muestra (S) del casete de prueba y ponga en marcha el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en el pocillo de la muestra (S). Vea la ilustración a continuación.
- 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), centrifúguese la muestra extraída 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

	<b>POSITIVO:</b> <b>Rotavirus Positivo:</b> * Aparece una línea roja en la región de la línea de control (C) y aparece otra línea roja en la región de la línea T2.
	<b>Adenovirus Positivo:</b> * Aparece una línea roja en la región de la línea de control (C) y aparece otra línea roja en la región de la línea T1.
	<b>Rotavirus y Adenovirus Positivo*</b> Aparece una línea roja en la región de la línea de control (C) y otras dos líneas rojas aparecen en la región de la línea T1 y la región de la línea T2 respectivamente.
	<b>NEGATIVO:</b> 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 (T1 / T2).
	<b>INVALIDO:</b> 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 la región de la línea de control (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

- El casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces) es para uso diagnóstico in vitro únicamente. La prueba debe utilizarse para la detección de rotavirus y adenovirus humanos en muestras de heces únicamente. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de la concentración de adenovirus y rotavirus humanos pueden determinarse mediante esta prueba cualitativa.
- El casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces) solo indicará la presencia de rotavirus y adenovirus en la muestra y no debe utilizarse como el único criterio para que el rotavirus y adenovirus conforme sea el agente etiológico de la diarrea.
- Como sucede con todas las pruebas de diagnóstico, todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
- 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 rotavirus o adenovirus con baja concentración de partículas de virus.

### VALORES ESPERADOS

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

### CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### Sensibilidad, especificidad y precisión clínicas

El rendimiento del casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces) se ha evaluado con 605 muestras clínicas recogidas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método de aglutinación con látex. Los resultados muestran que el casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces) tiene una alta sensibilidad y especificidad para rotavirus y adenovirus.

Prueba rápida de rotavirus	Método	Aglutinación de látex		Resultados totales
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	191	2	
Negativo	0	168	168	
Resultados totales		191	170	361

Sensibilidad relativa: >99.9% (98.4% - 100.0%)\*

Especificidad relativa: 98.8% (95.8% - 99.9%)\*

Precisión relativa: 99.4% (98.0% - 99.9%)\* \*95% Intervalo de confianza

Prueba rápida de adenovirus	Método	Aglutinación látex		Resultados totales
	Resultados	Positivo	Negativo	
	Positivo	60	1	
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%)\* \*95% Intervalos de Confianza

**Precisión  
Intra-Ensayo**

La precisión intra-análisis se ha determinado utilizando 15 réplicas de cinco muestras: una negativa, una positiva baja para rotavirus, una positiva baja para adenovirus, una positiva media para rotavirus y una positiva media para adenovirus. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Inter-Ensayo**

La precisión entre análisis se ha determinado mediante 15 ensayos independientes en las mismas cinco muestras: un negativo, un rotavirus positivo bajo, un adenovirus positivo bajo, un rotavirus medio positivo y un adenovirus medio positivo. Las muestras se identificaron correctamente > 99% de las veces.

**Reactividad cruzada**

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 1,0 x 10<sup>9</sup> organismos / ml. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se probaron con el casete de prueba rápida de rotavirus / adenovirus (heces).

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

**【BIBLIOGRAFÍA】**

1. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases: Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
2. WILHELM I, ROMAN E, SANCHEZ-FAUQUIER A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April, 2003, vol.9:247-262
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38
4. Hung, T et al (1984) Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. Lancet, May 26;1(8387): 1139-1142
5. Cukor, G; Perron, DM; Hudson, R and Blacklow, NR (1984) Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Micro. 19: 888-892
6. 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.
7. Nishio, Osamu, M. Oseto, 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.
8. 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.
9. 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.