

## PRUEBA RÁPIDA DE ROTAVIRUS Y ADENOVIRUS (Hece)

### [USO DESEADO]

La prueba en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) es un Inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de rotavirus y adenovirus en las heces humanas para ayudar en el diagnóstico de rotavirus y la infección por adenovirus.

### [RESUMEN]

La diarrea aguda en niños pequeños es una causa importante de morbilidad en todo el mundo y es una de las principales causas de mortalidad en los países en desarrollo. El rotavirus es el agente más común responsable de la gastroenteritis aguda, principalmente en niños pequeños. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantil representó un avance muy importante en el estudio de la gastroenteritis no causada por infección bacteriana aguda. El Rotavirus se transmite por vía oral-fecal con un período de incubación de 1-3 días. Aunque una recolección de especímenes en el segundo y quinto día de la enfermedad son ideales para la detección de antígeno, el rotavirus todavía se puede encontrar, mientras que la diarrea continúa. La gastroenteritis por rotavirus puede provocar la muerte de las poblaciones en riesgo, como los niños, los ancianos y pacientes inmunocomprometidos. En climas templados, se producen infecciones por rotavirus, sobre todo, en los meses de invierno. Se han reportado especies endémicas, así como las epidemias que afectan a miles de personas. En niños hospitalizados que sufren de enfermedad entérica aguda, el 50% fueron positivos para rotavirus. Los virus se replican en el núcleo celular y tienden a ser especies huésped específicas que producen un efecto citopático característico (CPE). Debido a que el rotavirus es extremadamente difícil de cultivar, no es habitual utilizar el aislamiento del virus en el diagnóstico de una infección. En su lugar, una variedad de técnicas se ha desarrollado para la detección de rotavirus en heces. La investigación ha demostrado que los adenovirus entéricos, principalmente Ad40 y Ad41, son la causa más probable de diarrea en muchos de estos niños, seguido de rotavirus como segundo lugar. Estos patógenos virales han sido aislados en todo el mundo, y pueden causar diarrea en los niños durante todo el año. Las infecciones son con mayor frecuencia se dan en niños menores de dos años, pero se han encontrado en pacientes de todas las edades. Otros estudios indican que los adenovirus se asocian con un 4-15% de todos los casos hospitalizados por gastroenteritis viral. El diagnóstico rápido y preciso de la gastroenteritis por otras técnicas de diagnóstico tales como la microscopía electrónica (EM) y la hibridación de ácido nucleico son caras y requieren mucho trabajo. Con la naturaleza auto limitante de la infección por adenovirus, tales pruebas costosas e invasivas en mano de obra pueden no ser necesarias.

La prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de rotavirus y adenovirus en muestras de heces humanas, proporcionando resultados en 10 minutos.

### [PRINCIPIO]

La prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) es un inmunoensayo de flujo lateral cualitativo para la detección de rotavirus y adenovirus en heces humanas. En esta prueba, la membrana es impregnada con anticuerpo anti-rotavirus en la zona de prueba T1 y un anticuerpo anti-adenovirus en la zona de prueba T2. Durante la prueba, la muestra reacciona con partículas revestidas con anticuerpo anti-rotavirus y el 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 sobre la membrana y generar una línea de color. La presencia de estas líneas de colores en la zona de prueba indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como control de procedimiento, una línea de color siempre aparecerá en la región de la línea control (C) la cual indica que la cantidad de muestra añadida fue apropiada y se ha producido reacción de la membrana.

### [REACTIVOS]

La prueba contiene anticuerpo anti-rotavirus y anticuerpo anti-adenovirus impregnados en la membrana, así como partículas revestidas con anticuerpo anti-rotavirus y anticuerpo anti-adenovirus.

### [PRECAUCIONES]

- Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad.
- La prueba debe permanecer en la bolsa sellada hasta su uso.
- No comer, beber o fumar en el área donde se manejan las muestras o las pruebas.
- Manipular todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Tomar en cuenta las precauciones contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos y seguir los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de los especímenes.

### [ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD]

- El casete debe ser almacenado a 2-30 °C hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa sellada
- No congelar
- No utilizar después de la fecha de caducidad.

### [RECOLECCIÓN DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO]

1. La detección viral se mejora mediante la recolección de las muestras en el inicio de los síntomas. Han informado de que la excreción máxima de rotavirus y adenovirus en las heces de pacientes con la gastroenteritis ocurre 3-5 días después del inicio de los síntomas. Si las muestras se recolectan mucho después de la aparición de los síntomas diarreicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados no pueden estar relacionados con el episodio diarreico.
2. La muestra de heces se deben recoger en un recipiente limpio y seco, resistente al agua que no contiene detergentes, conservantes o medios de transporte.
3. Llevar los reactivos necesarios a temperatura ambiente antes de su uso.

### [MATERIALES]

#### Materiales suministrados

- Casete de prueba
- Manual de instrucciones
- Tubo colector con buffer
- Gotero

#### Materiales requeridos, pero no suministrados

- Contenedores de recolección de muestras
- Temporizador

### [INSTRUCCIONES DE USO]

#### Llevar los casetes, muestras y buffer a temperatura ambiente (15- 30 °C) antes de su uso

#### Recolección de muestras fecales:

1. Recoger cantidad suficiente de heces (50 mg, equivalente a 1/4 de guisante) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco para obtener partículas de virus suficientes. Los mejores resultados se obtienen si la prueba se realiza dentro de 6 horas después de la recolección. Muestras recolectadas pueden ser almacenadas durante 3 días a 2-8 °C si no se ha realizado la prueba dentro de 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C.

#### Para recolectar muestras fecales líquidas:

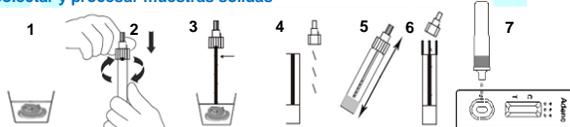
2. Sostenga el gotero verticalmente, aspire muestras fecales
3. Transfiera 2 gotas de la muestra líquida (aproximadamente 50 ul) al tubo de que contiene el buffer

#### Para procesar muestras fecales solidas:

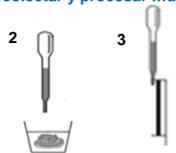
2. Desenrosque la tapa del tubo colector
3. Pinche la muestra con la pala de la tapa del contenedor, aleatoriamente en la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes
4. Atornille y apriete la tapa del buffer
5. Agite vigorosamente
6. Desenrosque la punta del tapón del buffer
7. Agregue 3 gotas de la muestra en el casete de la prueba
8. Interprete los resultados. Lea, los resultados en 10 minutos después de la dispensación de la muestra. No lea los resultados después de 20 minutos.

Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugar la muestra extraída contenida en el tubo colector. Recolectar 80uL del sobrenadante y dispensar en la zona de muestra (S). Iniciar el temporizador y continúe desde el paso 8 en adelante en las instrucciones anteriores para su uso.

#### Recolectar y procesar muestras solidas

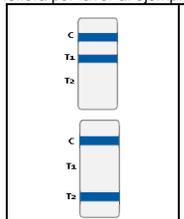


#### Recolectar y procesar muestras líquidas



### 8. [INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS]

(Refiera por favor al ejemplo de arriba)



#### POSITIVO:

**Rotavirus positivo:** \* Una línea roja aparece en la zona de control (C) y otra línea de color aparece en la región de la línea T1.

**Adenovirus positivo:** \* Una línea de color aparece en la región de control (C) y otra línea de color aparece en la región de la línea T2.

	<b>Rotavirus y Adenovirus positivo:</b> * Una línea de color aparece en la región de control (C) y otras dos líneas de color aparecen en región de la línea T1 y la línea T2 respectivamente.
<b>*NOTA:</b> La intensidad del color en la zona de la prueba (T1/T2) variará dependiendo de la concentración de rotavirus o antígenos de adenovirus presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la zona de la prueba (T1/T2) se debe considerar positivo.	
	<b>NEGATIVO:</b> Una línea de color aparece en la región de control (C). No aparece ninguna línea en la zona de prueba (T1/T2).
	<b>INVÁLIDO:</b> La línea de control (C) no aparece. Cantidad de muestra insuficiente o una técnica incorrecta son las razones más frecuentes del fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete. Si el problema persiste, deje de usar la prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.

### [CONTROL DE CALIDAD]

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control interno del procedimiento. Se confirma cantidad suficiente de muestra, reacción de la membrana adecuada y que el procedimiento se realizó correctamente. No se suministran controles con esta prueba, sin embargo, se recomienda realizar controles positivos y negativos como buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y para verificar el comportamiento adecuado de la prueba.

### [LIMITACIONES]n

1. La prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) es para uso diagnóstico in vitro solamente. La prueba debe ser utilizado para la detección de rotavirus humano y adenovirus en heces solamente. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento de rotavirus humano y concentración adenovirus se pueden determinar mediante esta prueba cualitativa.
2. La prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) sólo indicará la presencia de rotavirus y adenovirus en la muestra y no debe ser utilizado como el único criterio para el diagnóstico de rotavirus y adenovirus como agente etiológico de la diarrea.
3. Al igual que con todas las pruebas de diagnóstico, 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 usando otros métodos clínicos. Un resultado negativo no en cualquier momento excluye la posibilidad de rotavirus o la infección por adenovirus con baja concentración de partículas de virus.

### [VALORES ESPERADOS]

La prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) ha sido comparado con el método de aglutinación con, lo que demuestra una precisión global de  $\geq 97.0\%$ .

### [CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

#### Sensibilidad y especificidad

El rendimiento de la prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) ha sido evaluado en muestras clínicas recogidas de niños y adultos jóvenes en comparación con el método de aglutinación de látex. Los resultados muestran que la prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Hece) tiene una alta sensibilidad y especificidad para el rotavirus y adenovirus, patógenos comunes gastrointestinales.

Método	La aglutinación de látex		Resultados totales	
	Resultados	Positivo		Negativo
Prueba rápida de Rotavirus	Positivo	251	7	258
	Negativo	7	236	243
	<b>Resultados totales</b>	258	243	501

Sensibilidad relativa: 97,3% (IC del 95%: \* 94,5% -98,9%)

Especificidad relativa: 97,1% (IC del 95%: \* 94,2% -98,8%)

La exactitud relativa: 97,2% (IC del 95%: \* 95,4% -98,5%)

\* Intervalos de confianza

Método		La aglutinación de látex		Resultados totales
Prueba rápida de	Resultados	Positivo	Negativo	
Adenovirus	Positivo	118	6	124
	Negativo	6	251	257
<b>Resultados totales</b>		124	257	381

Sensibilidad relativa: 95,2% (IC del 95%: \* 89,8% -98,2%)

Especificidad relativa: 97,7% (IC del 95%: \* 95,0% -99,1%)

La exactitud relativa: 96,8% (IC del 95%: \* 94,6% -98,4%)

\* Intervalos de confianza

#### Precisión Intra-ensayo

Precisión intraensayo se ha determinado mediante el uso de 10 repeticiones de siete muestras: una negativa, un rotavirus positivo bajo, un adenovirus positivo bajo, un medio positivo de rotavirus, adenovirus un medio positivo, un positivo alto rotavirus y un positivo alto adenovirus. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99% de las veces.

#### Inter-ensayo

Precisión entre distintas series ha sido determinada por 10 ensayos independientes, en el mismo siete positivas, un adenovirus medio positivo, un rotavirus positivo alto y un adenovirus de alta positividad. Las muestras fueron correctamente identificadas >99% de las veces.

#### La reactividad cruzada

La reactividad cruzada con organismos siguientes se ha estudiado en  $1,0 \times 10^9$  organismos/mL. No se encontró reactividad cruzada al probar la prueba rápida en casete de rotavirus y adenovirus (Heces).

#### [REFERENCIAS]

1. Wadell, G. Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas: Principios y Prácticas. Nueva York: Springer-Verlag, Tomo II, 1988: 284-300.
2. WILHELM I, ROMANO E, Sánchez-FAUQUIER A. Los virus que causan la gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. Abril. 2003, vol.9: 247-262
3. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infección: un peligro inesperado en Unidades de Cuidados de la Mayor. Medicina Geriátrica Hoy 1: 33-38
4. Hung, T et al (1984) Waterborne brote de diarrea por rotavirus en adultos en China causada por un nuevo Rotavirus. The Lancet, 26 de Mayo; 1 (8387): 1139-42
5. Cukor, G; Perron, DM; Hudson, R y Blacklow, NR (1984) Detección de Rotavirus en Human Heces mediante el uso de anticuerpos monoclonales. J. Clin. Microbiol. 19: 888-892
6. Madera, DJ y AS Bailey. "detección de Adenovirus Tipos 40 y 41 en las heces Las muestras por Inmunológico Microscopía Electrónica "Journal of Medical Virology., 1987; 21: 191-199.
7. Nishio, Osamu, M. Ooseto, K. Takagi, Y. Yamasita, Y. Ishihara, y S. Isomura. "Enzyme-Linked inmunoabsorción ensayo que emplea anticuerpos monoclonales para la identificación directa de los adenovirus entéricos (Ad40, 41) en las heces." Microbiol. Immunol. 1990; 34 (10): 871-877.
8. Wood, DJ, K. Bijlsma, JC de Jong, y C. Tonkin. "Evaluación de un inmunoensayo enzimático basado en anticuerpos monoclonales comercial para la detección de tipos de adenovirus 40 y 41 en las heces especímenes." Journal of Clinical Microbiology, junio de 1989; 27 (6): 1155-1158.
9. Thomas, Eva. E., D. Roscoe, L. libro, B. Bone, L. Browne, y V. Mah. "La utilidad de látex Los ensayos de aglutinación en el diagnóstico de la gastroenteritis pediátrica viral." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101: 742-746

#### [INDICE DE SIMBOLOS]

	Atención, ver instrucciones de uso		Pruebas por equipo		Autorizado Representante
	Solo para uso de diagnóstico in vitro		Usar por		No reutilizar
	Almacenar entre 2-30°C		Número de lote		Catalogo #
	No utilizar si el paquete está dañado				

