

# Prueba rápida Rotavirus/Adenovirus

(Heces)  
ROA 0722/01  
REF DMRV01

## Uso deseado

La prueba rápida Rotavirus/Adenovirus para muestra de heces 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 [1]. El rotavirus es el agente más común responsable de la gastroenteritis aguda, principalmente en niños pequeños [2]. 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 fecal-oral con un período de incubación de 1-3 días. Aunque la recolección de muestras 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 continúe. La gastroenteritis por rotavirus puede provocar la muerte de las poblaciones en riesgo, como los niños, los ancianos y pacientes inmunocomprometidos [3]. 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 [4]. En niños hospitalizados que sufren de enfermedad entérica aguda, el 50% fueron positivos para rotavirus [5]. Los virus se replican en el núcleo celular y tienden a ser especies huésped específicas que producen un efecto citopático (ECP) característico. 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 niños, seguido de rotavirus como segundo lugar [6,7,8,9]. 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 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 [5,6,7,8,9]. El diagnóstico rápido y preciso de la gastroenteritis por otras técnicas de diagnóstico tales como la microscopía electrónica (ME) 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 intensivas en mano de obra pueden no ser necesarias.

La prueba rápida Rotavirus/Adenovirus (Heces) 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 Rotavirus/Adenovirus (Heces) 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 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 color 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 *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.
- Usar ropa de protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para ojos cuando manipule las muestras.
- La prueba utilizada debe ser desechada de acuerdo a las normas locales
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente los resultados de la prueba

## Almacenamiento y Estabilidad

- El cartucho 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.

## Materiales

### Materiales suministrados:

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

### Materiales requeridos, pero no suministrados:

- Contenedor de recolección de muestras
- Temporizador

## Recolección de muestras y almacenamiento

La prueba rápida Rotavirus/Adenovirus puede utilizarse solo con muestras de heces humanas.

- La muestra de heces se debe recoger en un recipiente limpio y seco, resistente al agua que no contiene detergentes, conservantes o medios de transporte.
- Llevar los reactivos necesarios a temperatura ambiente antes de su uso.
- 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 gastroenteritis ocurre 3-5 días después del inicio de los síntomas. Si las muestras se recolectan mucho después de la aparición de los síntomas diarréicos, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados no pueden estar relacionados con el episodio diarréico.
- 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 realiza la prueba dentro de 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20 °C.

## Instrucciones de uso

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

1. **Recolección de la muestra:**  
Recoja cantidad suficiente de heces (1-2 mL o 1-2 g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco para obtener partículas de virus suficientes.

2. **Procesamiento de la muestra:**

### • Para muestras sólidas:

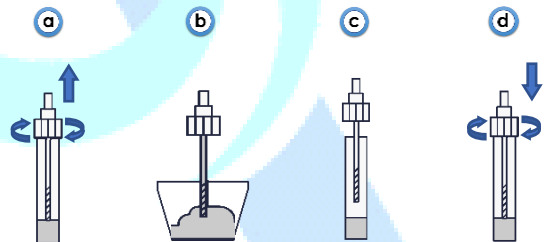
- a. Desenrosque la tapa del tubo colector.
- b. Pinche la muestra con la pala de la tapa del tubo colector. Toque aleatoriamente la muestra en al menos 3 sitios diferentes. Recoger cantidad suficiente de heces (50 mg, equivalente a 1/4 de chicharo).
- c. Coloque la pala dentro del tubo colector.
- d. Cierre perfectamente el tubo colector.
- e. Agite vigorosamente el tubo colector posteriormente déjelo en reposo durante 2 minutos.
- f. Desenrosque la punta del tapón del tubo.
- g. Retire el cartucho de la bolsa y colóquelo en una superficie limpia y plana. Agregue 2 gotas de la muestra preparada (80 µL aproximadamente) en el cartucho e inicie el temporizador.
- h. Espere a que aparezcan la (s) línea (s) e interprete resultados a los 10 minutos. No interprete después de 20 minutos

### • Para muestras líquidas:

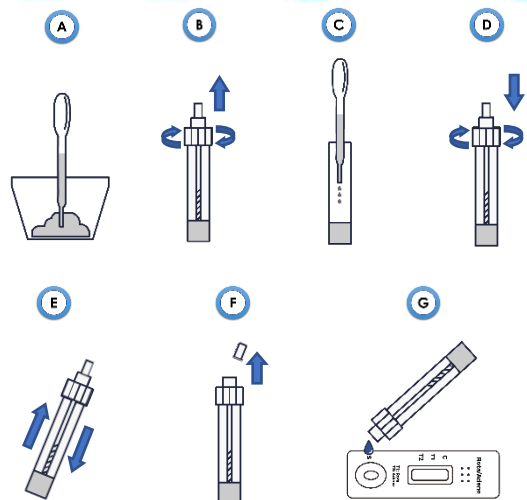
- A. Sostenga el gotero verticalmente, apriete el bulbo y coloque la punta del gotero sobre la muestra, suelte el bulbo para recolectar la muestra.
- B. Desenrosque la tapa del tubo colector.
- C. Transfiera 2 gotas de muestra líquida (50 µL aproximadamente) al tubo colector.
- D. Cierre perfectamente el tubo colector.
- E. Agite vigorosamente el tubo colector posteriormente déjelo en reposo durante 2 minutos.
- F. Desenrosque la punta del tapón del tubo.
- G. Retire el cartucho de la bolsa y colóquelo en una superficie limpia y plana. Agregue 2 gotas de la muestra preparada (80 µL aproximadamente) en el cartucho e inicie el temporizador.
- H. Espere a que aparezcan la (s) línea (s) e interprete resultados a los 10 minutos. No interprete después de 20 minutos

Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra preparada en el tubo colector. Recolecte 80 µL del sobrenadante y agregue a la prueba en la zona de muestra (S). Inicie el temporizador e interprete resultados según lo descrito.

### • Para muestras sólidas



### • Para muestras líquidas



## Interpretación de resultados



### 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.

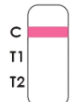


**Adenovirus positivo:** \* Una línea de color aparece en la región de control (C) y otra línea de color aparece en la región de la línea T2.



**Rotavirus y Adenovirus positivo:** \* 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.

**\*NOTA:** La intensidad del color en la zona de la prueba (T1/T2) variará dependiendo de la concentración de antígenos de rotavirus o adenovirus presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la zona de la prueba (T1/T2) se debe considerar positivo.



**NEGATIVO:** Una línea de color aparece en la región de control (C). No aparece ninguna línea en la zona de prueba (T1/T2).



**INVÁLIDO:** 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 cartucho. 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 el 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

1. La prueba rápida en cartucho de rotavirus y adenovirus (heces) es solo para uso diagnóstico *in vitro*. La prueba debe ser utilizada únicamente para la detección de rotavirus y adenovirus en heces humanas. Ni el valor cuantitativo ni la tasa de aumento y concentración de rotavirus/adenovirus humano se pueden determinar mediante esta prueba cualitativa.
2. La prueba rápida en cartucho de rotavirus y adenovirus (heces) 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 excluye la posibilidad de una infección por rotavirus o adenovirus.

## Valores Esperados

La prueba rápida en cartucho de rotavirus y adenovirus (heces) ha sido comparado con el método de aglutinación demostrando una precisión global de  $\geq 97.0\%$ .

## Características de presentación

### Sensibilidad y especificidad

El rendimiento de la prueba rápida en cartucho de rotavirus y adenovirus (heces) 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 cartucho de rotavirus y adenovirus (heces) tiene una alta sensibilidad y especificidad para la detección de rotavirus y adenovirus.

Método	Agglutinación de látex			Resultados totales
	Resultado	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida de Rotavirus	Positivo	251	
	Negativo	7	236	243
Resultados totales		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	Agglutinación de látex			Resultados totales
	Resultado	Positivo	Negativo	
	Prueba rápida de Rotavirus	Positivo	118	
	Negativo	6	251	257
Resultados totales		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

La repetibilidad de la prueba se ha determinado realizando 10 repeticiones de siete muestras: negativa, rotavirus positiva baja, adenovirus positiva baja, rotavirus positiva media, adenovirus positiva media, rotavirus positiva alta y adenovirus positiva alta. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99% de las veces.

#### Inter-Ensayo

La reproducibilidad ha sido determinada por 10 ensayos independientes, usando siete muestras: negativa, rotavirus positiva baja, adenovirus positiva baja, rotavirus positiva media, adenovirus positiva media, rotavirus positiva alta y adenovirus positiva alta. Se han analizado tres lotes diferentes de la prueba rápida con dichas muestras. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99% de las veces.

### Reactividad cruzada

La reactividad cruzada fue analizada usando los siguientes organismos en concentración de  $1 \times 10^7$  organismos/mL. No se encontró reactividad cruzada al probar la prueba rápida en cartucho de rotavirus y adenovirus (Heces).

*Staphylococcus aureus*  
*Pseudomonas aeruginosa*  
*Enterococcus faecalis*  
*Streptococcus grupo C*  
*Klebsiella pneumoniae*  
*Branhamella catarrhalis*  
*Candida albicans*

*Proteus mirabilis*  
*Acinetobacter spp*  
*Salmonella choleraesuis*  
*Gardnerella vaginalis*  
*Acinetobacter calcoaceticus*  
*E. coli*  
*Chlamydia trachomatis*

*Neisseria gonorrhoea*  
*Streptococcus grupo B*  
*Proteus vulgaris*  
*Enterococcus faecium*  
*Hemophilus influenzae*  
*Neisseria meningitidis*

### Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias potencialmente interferentes se agregaron a las muestras positivas y negativas a Rotavirus y Adenovirus. Ninguna sustancia presentó interferencia a los resultados.

Ácido Ascórbico: 20 mg/dl  
Ácido Úrico: 60 mg/dl  
Glucosa: 2000 mg/dl

Ácido oxálico: 60 mg/dl  
Aspirina: 20 mg/dl  
Cafeína: 40 mg/dl

Bilirrubina: 100 mg/dl  
Urea: 2000 mg/dl  
Albumina 2000 mg/dl

## Referencias

- [1]. Wadell, G. Laboratorio de Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas: Principios y Prácticas. Nueva York: Springer-Verlag, Tomo II, 1988: 284-300.
- [2]. WILHELMI 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. Oosefo, K. Takagi, Y. Yamasita, Y. Ishihara, y S. Isomura. "Enzyme-Linked inmunoadsorción 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 Ensayos de aglutinación en el diagnóstico de la gastroenteritis pediátrica viral." Am. J. Clin. Pathol. 1994; 101: 742-746

## Índice de símbolos

	Consultar el manual de uso
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>
	Almacenar entre 2 - 30 °C
	No utilizar si el paquete está dañado

	Caducidad
	Número de catálogo
	Número de lote
	No reutilizar