

Prueba Rápida **OnSite**™ Rotavirus Ag

REF R0194C CE

Instrucciones de Uso

USO

La Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa del antígeno del rotavirus en muestras fecales. Este dispositivo está diseñado para ser usado como instrumento de pesquijaje y para el apoyo al diagnóstico de infección con Rotavirus.

Cualquier uso o interpretación del resultado de la prueba preliminar también deben depender de otros resultados clínicos y el criterio profesional de los proveedores de atención de la salud. Método de ensayo alternativo (s) debe ser considerado para confirmar el resultado de la prueba obtenido por este dispositivo.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La diarrea en una de las principales causas de la morbilidad y mortalidad de niños alrededor del mundo, resultando en 2.5 millones de muertes anualmente^{1,2}. La infección por Rotavirus es una importante causa de diarrea severa en infantes y niños menores de 5 años^{3,4} contabilizado para un 40-60% de la gastroenteritis aguda y causante de un estimado de 500.000 muertes de niños cada año⁵. A la edad de cinco años, casi todos los niños del mundo han sido infectados con rotavirus al menos una vez^{6,7}; con infecciones subsecuentes, un amplio número de anticuerpos heterotípicos son producidos, por lo tanto, los adultos son raramente infectados⁸.

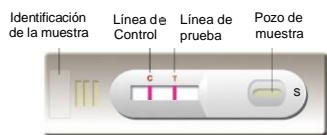
A la fecha siete grupos de rotavirus (grupos A-G) han sido aislados y caracterizados⁹; el Grupo A de Rotavirus es el más común, produce más del 90% de todas las infecciones por rotavirus en humanos¹⁰. El Rotavirus es transmitido principalmente por la ruta oro-fecal directamente de persona a persona¹¹. Los títulos de virus en las heces alcanzan un máximo poco después de la aparición de la enfermedad, luego disminuyen¹². El período de incubación de la infección por rotavirus es generalmente de uno a tres días seguidos de gastroenteritis con una duración media de tres a siete días, los síntomas de la enfermedad van desde una diarrea leve, acuosa a diarrea grave con fiebre y vómitos.

El diagnóstico de la infección por rotavirus puede realizarse siguiente al diagnóstico de la gastroenteritis como la causa de diarrea severa en niños. Recientemente, el diagnóstico específico de la infección con rotavirus se viene realizando con la detección del antígeno del virus en heces por inmunoensayos tales como la aglutinación en látex, EIA, e inmunoensayos cromatográficos de flujo lateral^{13,14}.

La Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral el cual utiliza un par de anticuerpos específicos para la detección cualitativa del antígeno del rotavirus en muestras fecales. La prueba puede ser realizada sin equipo de laboratorio significativo, y los resultados están disponibles en 15 minutos.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La tira de prueba consiste en: 1) una almohadilla con conjugado coloreado que contiene anticuerpo monoclonal anti-rotavirus conjugado con oro coloidal (conjugados anti-rotavirus), 2) una membrana de nitrocelulosa que contiene una línea de prueba (línea T) y una línea de control (línea C). La línea T está pre-recubierta con otro anticuerpo monoclonal anti-rotavirus, y la línea C está pre-cubierta con un anticuerpo control.



Cuando un volumen adecuado de muestra extraída es dispensada dentro del pozo de muestra del casete de prueba, la muestra migra por acción capilar a través del casete. Si está presente el antígeno del rotavirus, se unirá con los conjugados anti-rotavirus. El inmunocomplejo es entonces capturado en la membrana por el anticuerpo de rotavirus pre-recubierto, formando una línea T coloreada, indicando un resultado positivo de la prueba.

La ausencia de la línea T sugiere que la concentración del Ag de Rotavirus en la muestra está por debajo del nivel detectable, indicando un resultado negativo para rotavirus. La prueba contiene un control interno (línea C) la cual exhibe una línea coloreada del inmunocomplejo de los anticuerpos control independientemente de la presencia de color en la línea T. Si la línea C no desarrolla color el resultado no es válido y la muestra debe ser ensayada con otro dispositivo.

REACTIVOS Y MATERIALES SUMINISTRADOS

- Cada empaque sellado individualmente contiene:
 - Un dispositivo de casete
 - Un desecante
- Tubos de recolección de muestras de heces, cada uno con 2 mL de buffer de extracción (REF SB-R0194)
- Goteros plásticos para transferir las heces líquidas
- Etiquetas de identificación de pacientes
- Instrucciones de Uso

MATERIALES QUE SON REQUERIDOS Y NO SON SUMINISTRADOS

- Control Positivo
- Control Negativo

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SE SUMINISTRAN

- Reloj o cronómetro
- Contenedor para recolectar la muestra

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

Para uso de Diagnóstico *in Vitro*

- Lea estas instrucciones de uso completamente antes de la realización de la prueba. Se pueden generar resultados erróneos si no se siguen las instrucciones correctamente.
- No abra el empaque sellado hasta que no se vaya a realizar la prueba.
- No use los dispositivos si se encuentran vencidos.
- Atemperé los reactivos de 15 a 30°C antes de usarlos.
- No utilice los componentes de otro tipo de prueba como sustituto de los componentes de este kit.
- Use ropa protectora y guantes desechables mientras manipule los reactivos del kit y las muestras clínicas. Lave sus manos después de realizar la prueba.
- No fume, beba ni coma en las áreas donde se manipulen muestras o reactivos del kit.

8. Deseche todas las muestras y los materiales del kit usados como residuos biológicos peligrosos.
9. Los usuarios de esta prueba deben seguir las precauciones universales del CDC de Estados Unidos por bioseguridad.
10. **No extraiga la muestra fecal con una pala o cuchara ya que esto genera exceso de muestra que tiende a coagularse en la cavidad del dispositivo e interferir con la migración de la muestra.**
11. Los resultados del ensayo deben leerse a los 15-20 minutos después de adicionar la muestra o el control a la tira. Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de los 15-20 minutos debe ser considerada no válida y la prueba debe repetirse.
12. No procese la muestra en un lugar con fuerte corriente de aire, con ventiladores o aire acondicionado.

PREPARACION DE REACTIVOS E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

Todos los reactivos vienen listos para ser usados. El almacenamiento de los dispositivos cerrados debe ser de 2-30°C. Si se almacena de 2-8°C, asegúrese de que el dispositivo de prueba se lleva a temperatura ambiente antes de la apertura. El dispositivo de prueba se estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa. No congele el kit o exponer el kit a más de 30°C.

RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA Y MANIPULACIÓN

Considere todos los materiales de origen humano como infecciosos y manipulelos siguiendo los procedimientos de bioseguridad.

Para preparar las muestras a partir de muestras de heces sólidas, siga el procedimiento A. Para preparar las muestras a partir de muestras de heces acuosas, siga el procedimiento B.

Procedimiento A: Heces Sólidas

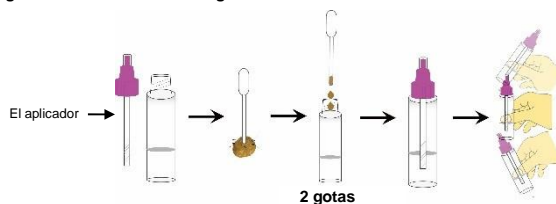
- Paso 1: Recolecte una muestra aleatoria de las heces en un recipiente limpio y seco.
- Paso 2: Asegúrese de marcar el tubo de recolección de muestras de heces con la etiqueta de identificación del paciente. Desenrosque el tapón del tubo de muestras y retire el aplicador. Aleatoriamente perforo el espécimen fecal en por lo menos cinco (5) puntos diferentes. **No saque la muestra de heces, puede dar un resultado no válido.**
- Paso 3: Asegúrese de que la muestra permanezca en el interior de las ranuras. **El exceso de muestra de heces, puede dar un resultado no válido.**
- Paso 4: Vuelva a colocar el tubo dentro del contenedor de prueba y apriete bien.
- Paso 5: **Agite el tubo de extracción vigorosamente.**



La muestra está ahora lista para procesarla, transportarla o almacenarla.

Procedimiento B: Heces Líquidas

- Paso 1: Recolecte una muestra aleatoria de las heces en un recipiente limpio y seco.
- Paso 2: Asegúrese de marcar el tubo de recolección de muestras de heces con la etiqueta de identificación del paciente. Desenrosque el tapón del tubo de muestras y retire el aplicador.
- Paso 3: Llene el gotero plástico con la muestra; agregue 2 gotas (70-85 µL) dentro del tubo de extracción.
- Paso 4: Vuelva a colocar la tapa del tubo y apriete bien.
- Paso 5: **Agite el tubo de extracción vigorosamente.**



La muestra está ahora lista para procesarla, transportarla o almacenarla.

Nota: Las muestras extraídas pueden almacenarse de 2 a 8°C por hasta 3 días. Si va a ser un almacenamiento más prolongado se recomienda congelarla a ≤ -20°C.

PROCESAMIENTO

- Paso 1: Lleve los componentes de muestras y ensayos a temperatura ambiente en caso de estar refrigerados o congelados.
- Paso 2: Una vez se esté listo para llevar a cabo el ensayo, abra la bolsa por la muesca y retire el dispositivo. Coloque el dispositivo de prueba en una superficie limpia y plana.
- Paso 3: Agite el tubo de recolección de muestras vigorosamente con el fin de asegurar una completa suspensión líquida.
- Paso 4: Mantenga el tubo boca arriba, gire la tapa. Vierta 2 gotas de la solución (85-95 µL) en la almohadilla de muestras en el dispositivo. No sobrecargue el dispositivo con muestra.



Paso 5: Contabilice el tiempo.

Paso 6: Los resultados pueden leerse entre los 15 minutos. Los resultados positivos pueden ser visibles a partir de 1 minutos. Los resultados negativos deben ser confirmados al final de los 20 minutos. **Cualquier interpretación de resultados hecha fuera de la ventana de 15-20 minutos debe ser considerada no válida y el ensayo debe ser repetido. Tras interpretar los resultados deseche los dispositivos usados según las regulaciones locales.**

CONTROL CALIDAD

1. **Control Interno:** El ensayo contiene un control interno: la línea C. Esta línea aparece

después de adicionar la muestra. Si la línea C no aparece, revise todo el procedimiento y repita el ensayo con un nuevo dispositivo.

- Control Externo:** Las Buenas Prácticas de Laboratorio recomiendan el uso de controles externos, tanto positivos como negativos, para asegurar que el ensayo funciona adecuadamente, especialmente en las siguientes circunstancias:
 - El dispositivo es usado por un nuevo operario.
 - Se está usando un nuevo lote de reactivos.
 - Se está usando un nuevo envío de reactivos.
 - La temperatura de almacenamiento ha estado fuera de 2-30°C.
 - La temperatura del área de ensayo está fuera de 15-30°C.
 - Verificar frecuencias anormales de resultados positivos o negativos.
 - Investigar la causa de resultados no válidos repetidos.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- RESULTADO NEGATIVO:** Solo si se visualiza la línea C coloreada, la prueba indica que el nivel de Antígeno de Rotavirus en la muestra es indetectable. El resultado es negativo o no reactivo.



- RESULTADO POSITIVO:** Si la línea C y T se desarrollan, la prueba indica que la muestra contiene Ag de Rotavirus. El resultado es positivo o reactivo.



Las muestras con resultados positivos deben ser confirmadas con métodos de análisis alternativos y según los hallazgos clínicos antes de determinar el diagnóstico.

- RESULTADO INVALIDO:** Si la línea C no se colorea, el ensayo se considera inválido a pesar de que la línea T se tinte. Se debe realizar nuevamente la prueba en otro casete.



CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

1. Desempeño Clínico

Un total de 107 muestras recolectadas de pacientes con diarrea sintomática y síntomas sin diarrea fueron probados con la Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag y con una prueba rápida de referencia de antígeno de rotavirus. La comparación de todos los individuos se muestra en la siguiente tabla:

Referencia	Prueba Rápida <i>OnSite</i> Rotavirus Ag		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	36	0	36
Negativo	2	69	71
Total	38	69	107

Sensibilidad Relativa: 100%, Especificidad Relativa: 97.2%, Concordancia: 98.1%

2. Detección de Serotipo

La Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag detecta el Grupo A del Rotavirus.

3. Reactividad Cruzada

La reactividad cruzada de la Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag fue llevada a cabo con pruebas de muestras fecales recolectadas de pacientes con enfermedad infecciosa gastrointestinal.

Muestras Fecales	Tamaño de la Muestra	Reactividad Rotavirus Ag
Fiebre Tifoidea	6	Negativo
Adenovirus	10	Negativo
H. pylori	10	Negativo
Cólera (adicionado)	3	Negativo

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

- El procedimiento del análisis y la interpretación de los resultados de la prueba debe seguirse de cerca cuando se prueba la presencia de antígeno de rotavirus en heces. Si no sigue el procedimiento puede dar resultados inexactos.
- La Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag se limita a la detección cualitativa del antígeno de rotavirus en muestra de heces humanas. La intensidad del color de la línea no se correlaciona con la cantidad de antígenos en la muestra.
- Un resultado negativo de un individuo indica la ausencia de antígenos detectables de Rotavirus. Sin embargo, un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por Rotavirus.
- Un resultado negativo puede ocurrir si la cantidad de antígenos de Rotavirus presentes en la muestras están por debajo del límite de detección de la prueba o los antígenos que son detectados no están presentes en la muestra fecal recolectada.
- Si los síntomas persisten, y los resultados de la prueba son negativos o no-reactivos con la Prueba Rápida *OnSite* Rotavirus Ag es recomendable tomar una nueva muestra días después o realizar una prueba alternativa.
- No se recomienda el uso de heces de meconio en la prueba, ya que las características de rendimiento no han sido evaluadas para este tipo de muestras.
- Los resultados obtenidos con esta prueba deben ser interpretados junto con otros procedimientos diagnósticos y la sintomatología clínica.

REFERENCIAS

- Kosek M, Bern C, and Guerrant RL. The global burden of diarrhea disease, as estimated from studies published between 1992 and 2000. *Bull WHO.* (2003) 81:197-204.
- O’Ryan, M, Prado V, and Pickering LK, A millennium update on pediatric diarrheal illness in the developing world. *Semin Pediatr Infect Dis* (2005) 16:125-136.
- Parashar, U, Gibson CJ, Bresee JS, et al. Rotavirus and severe childhood diarrhea. *Emerg Infect Dis* (2006) 12:304-306.
- Parashar UD, Bresee JS, Gentsch JR, et al., Rotavirus. *Emerg Infect Dis* (1998) 4(4):561-570.
- Ryan, KJ and Ray, CG. *Sherris Medical Microbiology*, 5th ed. McGraw Hill Medical, 2010.

- Gurwith, M., Wenman, W., Hinde, D., et al. A prospective study of rotavirus infection in infants and young children. *J Infect Dis* (1981) 144:218-224.
- Velázquez, FR, Matson, DO, Calva, JJ, et al. Rotavirus infections in infants as protection against subsequent infections. *N Engl J Med* (1996) 335:1022-1028.
- Angel, J, Franco, MA, and Greenber, HB. Rotavirus immune responses and correlates of protection. *Curr Opin Virol.* (2012) 4:419-425.
- Kapikian, AZ, Hoshino, Y, Chanock, RM, Rotaviruses. In: Knipe, DM, Howley, PM, Griffin, DE, et al, Eds. *Field’s Virology*. 4th edition. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott, William and Wilkens Press, 2001. p. 1787-1793.
- Kirkwood CD. Genetic and antigenic diversity of human rotaviruses: potential impact on vaccination programs. *J Infect Dis* (2010) 202 Suppl:S43-8.
- Estes, MK, and Kapikian AZ. Rotaviruses. In: Knipe, DM, Howley, PM, Eds. *Field’s Virology*. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott, William and Wilkens Press, 2007.
- Christensen, ML. Human viral gastroenteritis. *Clin Microbiol Rev* (1989) 2:51-89.
- Dennehy, PH, Gauntlett, DR and Spangenberg, SE. Choice of reference assay for the detection of rotavirus in fecal specimens: electron Microscopy versus enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* (1990) 6:1280-1283.
- Lipson, SM, and Zelinsky, KA. Comparison of four latex agglutination (LA) and three enzymelinked immunosorbent assays (ELISA) for the detection of rotavirus in fecal specimens. *Am. J. Clin. Path.* (1989) 92: 637-643.

Índice de CE Símbolos

Consulte las instrucciones de uso	Para uso diagnóstico <i>in vitro</i> únicamente	Utilice por
Catálogo número	Número de Lote	Pruebas por kit
Almacenar de 2 a 30°C	Representante Autorizado	No reutilizar
Fabricante	Fecha de fabricación	

CTK Biotech, Inc.
 13855 Stowe Drive
 Poway, CA 92064, USA
 Tel: 858-457-8698
 Fax: 858-535-1739
 E-mail: info@ctkbiotech.com

MDSS GmbH
 Schiffgraben 41
 30175 Hannover, Germany

PI-R0194C-Spanish Rev. AP1.0
 Fecha de publicación: 2020-01-27
 Versión en Español



www.medibac.com