



# MONTEBIO Rotavirus

## USO INDICADO

**COD: ROTA-F23**

La prueba rápida Rotavirus (heces) es un inmunoensayo visual rápido para la detección cualitativa de Rotavirus en muestras de materia fecal humana. Esta prueba es de uso profesional exclusivo y sirve como ayuda en el diagnóstico rápido de infección por Rotavirus.

## INTRODUCCION

El Rotavirus es el agente causal de gastroenteritis agudas más común, principalmente en niños pequeños. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con gastroenteritis infantiles ha representado un importante adelanto en el estudio de las gastroenteritis no causadas por una infección bacteriana aguda. El Rotavirus se transmite por vía oro-fecal, con un periodo de incubación de 1 a 3 días. A pesar de que las muestras recolectadas entre el segundo y el quinto día son ideales para la detección del antígeno, el Rotavirus todavía se puede encontrar mientras la diarrea persista. La gastroenteritis por Rotavirus puede resultar mortal para poblaciones de riesgo como infantes, adultos mayores, y pacientes inmunocomprometidos. En climas templados, la infección por Rotavirus ocurre principalmente en los meses de invierno. Se han reportado tanto epidemias como epidemias con miles de personas afectadas. Al analizar muestras provenientes de niños hospitalizados que sufren de enfermedad entérica aguda, más del 50% de las mismas resultaron positivas para Rotavirus. Este virus se replica en el núcleo celular y tiende a ser específico de la especie huésped, produciendo un efecto citopático característico (CPE). Debido a que el Rotavirus es extremadamente difícil de cultivar, es inusual utilizar el aislamiento del mismo en el diagnóstico de la infección. En su lugar, una variedad de técnicas han sido desarrolladas para detectar el Rotavirus en heces.

## PRINCIPIO

La prueba rápida Rotavirus (heces) está diseñada para detectar Rotavirus mediante la interpretación visual del desarrollo de color en la tira interna del dispositivo. La membrana contiene anticuerpos anti-rotavirus inmovilizados en las zonas de prueba del dispositivo. Durante la prueba, en caso de estar presente el virus éste podrá reaccionar con anticuerpos anti-rotavirus conjugados con oro coloidal que fueron pre-adheridos en la zona donde se deposita la muestra del dispositivo. Al agregar la muestra, la mezcla ascenderá por capilaridad e interactuará con los reactivos presentes en la membrana. Si se encuentra suficiente cantidad de Rotavirus en la muestra, una línea coloreada se formará en la región (T) de la membrana. La presencia de banda coloreada en la zona (T) de la membrana indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La presencia de una línea coloreada en la zona de control (C) de la membrana sirve como control, indicando que el volumen de muestra utilizado ha sido el correcto y que la prueba funciona correctamente.

## MATERIALES

### Materiales suministrados

Caja conteniendo:

- 25 Cassettes
- 25 Tubos aplicadores con buffer
- 1 Ficha técnica

### Material requerido no suministrado

- Cronómetro
- Centrifuga
- Recipiente recolector de muestra

## ADVERTENCIAS

- Solo para Diagnóstico de Uso "in vitro". No utilizar después de su fecha de vencimiento indicada en el envase.
- No utilizar el dispositivo si el envase se encuentra dañado. No reutilizar los dispositivos.
- Este kit contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen o el estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patógenos de transmisión. Considerar todas las precauciones como potencialmente infecciosos (no ingerir ni inhalar). Observe las precauciones establecidas contra los riesgos microbiológicos (bioseguridad) y siga los procedimientos estándares establecidos para el desecho adecuado de las muestras.
- No comer, beber o fumar en el área de trabajo mientras las muestras están siendo procesadas.
- El buffer de dilución de la muestra contiene azida sódica, la cual puede reaccionar con plomo o plomería de cobre para formar potencialmente ácidos metálicos explosivos. Cuando descarte las muestras diluidas con el buffer, haga correr copiosamente grandes cantidades de agua para evitar acumulación de azida.
- Utilice protección adecuada (guardapolvo, guantes descartables y antiparras) cuando las

muestras estén siendo procesadas.

- Procedimientos inadecuados de recolección de la muestra, almacenamiento y transporte pueden llevar falsos resultados negativos.
- La humedad y la temperatura pueden afectar los resultados.
- La prueba, una vez utilizada debe descartarse de acuerdo con las regulaciones locales.

## ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD

- El kit debe ser almacenado en su envase original a temperatura ambiente o refrigerado (entre 2 y 30° C) hasta la fecha de vencimiento impresa en el envase.
- El dispositivo debe permanecer en su envase hasta ser utilizado.
- NO CONGELAR.
- Evitar la contaminación de los componentes de este kit. No utilizar si hay evidencia de contaminación microbiana o precipitado.

## OBTENCION Y PREPARACION DE LA MUESTRA

- La prueba rápida Rotavirus (heces) está indicada solo para el uso con materia fecal humana.

- La detección viral será más eficiente si la muestra se recolecta en el inicio de los síntomas. Se ha reportado que la máxima excreción de rotavirus en heces de pacientes con gastroenteritis ocurre entre los 3-5 días luego del inicio de los síntomas. Si la muestra se obtiene luego de un periodo prolongado desde el inicio de los síntomas de diarrea, la cantidad de antígeno puede no ser suficiente para obtener un resultado positivo o el antígeno detectado no podrá ser asociado al episodio de diarrea.
- Realizar el ensayo tan pronto como sea posible después de que las muestras han sido recolectadas. No dejar las muestras a temperatura ambiente por periodos prolongados. Las muestras pueden ser refrigeradas a 2-8°C por hasta 72 hs.
- Si la muestra debe ser enviada, empaque la misma de acuerdo con las regulaciones locales para el transporte de agentes etiológicos.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de ser procesadas.

## PROCEDIMIENTO

Lleve el cassette, la muestra y/o los controles a temperatura ambiente (15-30° C) antes de su uso.

### Recolección y pre tratamiento de las muestras:

1. Para la toma de muestra use un envase limpio y seco. Para mejores resultados, la prueba debe realizarse en el transcurso de las 6 horas de recolectada.
2. Para muestras sólidas: Desenrosque y remueva el tubo aplicador de dilución. Evite derramar o salpicar la solución del tubo. Inserte el aplicador en tres lugares distintos de la materia fecal, obteniendo aproximadamente 50 mg de la misma.
- Para muestras líquidas: Sostenga la pipeta en posición vertical, aspire la muestra de materia fecal y transfiera 2 gotas (50µl. aproximadamente) dentro del tubo de recolección con el buffer de extracción.
3. Coloque el aplicador nuevamente dentro del tubo y enrosque la tapa. Evite romper la punta del tubo de dilución.
4. Agite vigorosamente el tubo de recolección para mezclar la muestra con el buffer extractor. Las muestras preparadas en el tubo de recolección pueden ser almacenadas por 6 meses a -20° si no son analizadas dentro de la hora.

### Análisis de las muestras:

1. Saque el cassette del envase sellado y colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada. Rotule el cassette con los datos del paciente. Para obtener mejores resultados, analizar la muestra dentro de 1 hora.
2. Rompa la punta del tubo de dilución usando papel tissue. Sostenga el tubo en forma vertical y dispense 2 gotas de la solución en el pocillo de la muestra(S) del cassette. Evite la formación de burbujas en el pocillo de muestra (S).
3. Espere la aparición de banda(s) coloreada(s). El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interpretar los resultados a los 20 minutos.

\*NOTA: si la muestra no migra (por presencia de partículas), centrifugue la muestra extractada en el tubo de recolección. Tome 80µl. del sobrenadante y dispénselo en el pocillo de muestra (S) de un nuevo cassette y siga las instrucciones mencionadas anteriormente.

## INTERPRETACION DE RESULTADOS



**POSITIVO:** Una banda coloreada aparece en la zona de control (C) y otra banda coloreada aparece en la zona (T).



**NEGATIVO:** una banda coloreada aparece en la zona de control (C). No aparecerá una banda coloreada en la zona (T).



**INVALIDO:** la banda en la zona de control (C) no aparece. Los resultados de cualquier muestra que no producen línea coloreada en la zona de control (C) en el tiempo específico de lectura deberán ser descartados. Por favor, revise el procedimiento y repita con un nuevo cassette.

\*NOTA: la intensidad del color de la banda en la zona (T) puede variar dependiendo de la concentración de analito presente en la muestra. Por lo tanto cualquier tonalidad de color en la zona (T) debe ser considerada positiva. Es una prueba cualitativa únicamente y no puede determinar la concentración de analito en la muestra. Las causas más probables de falla en la aparición de la banda en la zona de control (C) son: volumen de muestra insuficiente, error en el procedimiento y uso de test vencidos.

## CONTROL DE CALIDAD

### Control de Calidad Interno

Los controles de procedimiento están incluidos en la prueba. El control interno de procedimiento esta dado por una banda coloreada aparecerá en zona de control (C). Esto confirma un volumen de muestra suficiente y un procedimiento correcto.

### Control de Calidad Externo

Este kit no proporciona controles externos. Como buena práctica de laboratorio se recomienda el uso de controles positivos y negativos para verificar el funcionamiento apropiado del kit.

## LIMITACIONES

- La prueba rápida Rotavirus (heces) esta unicamente indicada para el Diagnóstico de Uso "in vitro" y debe ser usada para una detección cualitativa de Rotavirus exclusivamente.
- El diagnostico clínico no debe basarse únicamente en el resultado de la prueba rápida. El contexto clínico completo del paciente debe ser incluido cuando se toma una decisión diagnóstica, teniendo en cuenta los síntomas clínicos y otra información relevante.
- Si la prueba resulta negativa y los síntomas clínicos persisten, se recomienda realizar pruebas adicionales utilizando otro método clínico. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por Rotavirus, pudiendo estar los mismos por debajo del nivel mínimo de detección de la prueba.

## CARACTERISTICAS TÉCNICAS

**Tabla: Prueba rápida Rotavirus vs. ELISA**

		Rotavirus		
		+	-	Total
ELISA	+	79	3	82
	-	0	160	160
		79	163	242

**Sensibilidad Relativa:** >96,3%

**Especificidad Relativa:** >99,9%

**Concordancia Total:** >98,8%

### Especificidad:

Se estudió la reactividad cruzada de los siguientes microorganismos a 1,0 x10<sup>9</sup> microorganismos/ml. Los resultados fueron negativos al analizar los mismos con la prueba rápida para para Rotavirus (heces).

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

## BIBLIOGRAFIA

1. WILHELMI I, ROMAN E, SANCHEZ-FAUQUIER A. Viruses causing gastroenteritis. Clin Microbiol Infect. April. 2003, vol.9:247-262
2. Cubitt, WD (1982) Rotavirus Infection:An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1: 33-38
3. 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
4. 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
5. Wadell, G. Laboratory Diagnosis of Infectious Diseases:Principles and Practices. New York: Springer-Verlag, Volume II, 1988: 284-300.
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. 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
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.

### IMPORTADOR/ ACONDICIONADOR

#### **MONTEBIO S.R.L.**

Vera 575, C.A.B.A. , Argentina

Tel. Fax: 4858-0636



Autorizado por ANMAT: PM-246-34

Director Técnico: Farm. Sebastián Antonicelli MN: 14853

Condicion de venta: Uso Profesional Exclusivo.

V-00