

Rotavirus

Rapid Test Device (Feces)

ROTA-F23

USO

El **Rotavirus Rapid Test Device** es un inmunoensayo in vitro, para la detección directa y cualitativa de antígenos del rotavirus en muestras fecales humanas. Este test es solamente para uso profesional.

INTRODUCCION

El Rotavirus es el virus de mayor incidencia en gastro enteritis agudas, principalmente en niños pequeños. Su descubrimiento en 1973 y su asociación con la gastroenteritis infantil supuso un avance muy importante 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. Aunque la recolección de muestras tomadas dentro del tercer y quinto día de la enfermedad es ideal para la detección de antígenos, aún se puede encontrar el rotavirus mientras continúa la diarrea. La gastroenteritis por rotavirus puede provocar la mortalidad de las poblaciones en riesgo, como los lactantes, los ancianos y los pacientes inmuno comprometidos. En climas templados, las infecciones por rotavirus ocurren principalmente en los meses de invierno. Se han informado casos endémicos y epidémicos que afectaron a unas mil personas. Con niños hospitalizados que padecían enfermedad entérica aguda, hasta el 50% de las muestras analizadas fueron positivas para rotavirus. Los virus se replican en el núcleo celular y tienden a ser específicos de la especie huésped produciendo un efecto citopático característico (CPE). Debido a que el rotavirus es extremadamente difícil de cultivar, es inusual usar el aislamiento del virus para diagnosticar una infección. En cambio, se han desarrollado una variedad de técnicas para detectar el rotavirus en las heces.

PRINCIPIO

El dispositivo de prueba rápida de rotavirus (heces) ha sido diseñado para detectar rotavirus a través de la interpretación visual del desarrollo de color en la tira de nitrocelulosa interna. La membrana, en su región de prueba (T) se inmovilizan anticuerpos anti-rotavirus. Durante la prueba, se permite que la muestra reaccione con conjugados de oro coloidal de anticuerpos anti-rotavirus coloreados, que fueron recubiertos previamente en la almohadilla de muestra de la prueba. Luego, el conjugado mezcla se mueve por capilaridad a través de la membrana, e interactúa con los reactivos en la membrana. Si hubo suficiente rotavirus en la muestra, se formará una banda coloreada en la región de prueba de la membrana. La presencia de esta banda de color indica un resultado positivo, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. La aparición de una banda coloreada en la región de control (C), sirve como control de procedimiento. Esto indica que se ha agregado el volumen adecuado de muestra y que se ha producido la absorción de la membrana.

MATERIALES

Materiales Provisdos con el kit

- Cassettes empacados individualmente
- Pipetas desechables
- Inserto de Instrucciones de Uso
- Tubos con buffer para dilución de muestra

Materiales Requeridos pero no provistos con el kit

- Centrifuga
- Reloj o cronometro
- Frasco recolector de la muestra

PRECAUCIONES

- Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Antes de usar, lea este instructivos de uso, y siga las instrucciones.
- No utilizar kits o componentes fuera de su fecha de expiración.
- El kit contiene materiales de origen animal que deben ser manejados como potencialmente contaminantes.
- Los cassettes de prueba viene envasados individualmente en sobres de aluminio para protegerlos de la humedad ambiente y de la luz durante su almacenaje.
- Antes de usar, revise el envase. NO utilice si presenta perforación o apertura que podrían haber dañado la calidad de reactivos.
- No utilice el buffer si este presenta coloración o turbidez, ya que podría estar contaminado
- Toda muestra de paciente debe ser tratada y elimina como potencial peligro de contaminación.
- Las muestras deben ser homogeneizadas con el buffer para asegurar un procedimiento preanalítico adecuado que asegure la calidad del resultado.
- Muestras mal tomadas (con poca concentración de virus), mal almacenadas, mal transportadas, o, que no estén a temperatura ambiente pueden ocasionar una disminución de la sensibilidad del test y entregar resultados falso positivo.
- El buffer salino contiene azada de sodio. Evite en contacto del buffer co la piel, en este caso, lave profusamente con agua.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

- Mantenga el kit a una temperatura entre 15-30°C, cuando no este en uso.
- NO REFRIGERAR NI CONGELAR.**
- El kit es estable hasta la fecha de expiración indicada en la caja y en cada componente, si se usan reactivos vencidos los resultados no deben ser interpretados.

RECOLECCION DE LA MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

- El dispositivo de prueba rápida de rotavirus está diseñado para usarse únicamente con muestras fecales humanas.
- La detección viral se mejora recolectando las muestras al inicio de los síntomas. Se ha informado que la excreción máxima de rotavirus en las heces de pacientes con gastroenteritis ocurre de 3 a 5 días después del inicio de los síntomas. Si las muestras se recogen mucho después de la aparición de los síntomas diarreicos, es posible que la cantidad de antígeno no sea suficiente para obtener una reacción positiva o que los antígenos detectados no estén relacionados con el episodio diarreo.
- Realice la prueba inmediatamente después de la recolección de la muestra. No deje las muestras a temperatura ambiente durante periodos prolongados. Las muestras se pueden almacenar a 2-8 °C durante un máximo de 72 horas.
- Lleve las muestras a temperatura ambiente antes de ejecutar la prueba.
- En caso de tener que enviar muestras a otro laboratorio, embalar estas de acuerdo con las normas aplicables para el transporte de agentes etiológicos.

PROCEDIMIENTO

Deje todos also reactivos a temperature a ambiente antes de utilizar.

1. Recolección y pre tratamiento de la muestra:

- Utilice el contenedor de recogida de muestras proporcionado en el kit para la recogida de muestras. Siga el procedimiento de operación escrito en el kit para obtener instrucciones. También podrían usarse otros recipientes limpios y secos para el mismo propósito. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recolección.
- Para muestras sólidas:** Desenrosque y retire el aplicador del tubo de dilución. Tenga cuidado de no derramar o salpicar la solución del tubo. Recoja las muestras insertando el aplicador en al menos 3 sitios diferentes de las heces para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 de un guisante).
- Para muestras líquidas:** Sostenga la pipeta verticalmente, aspire las muestras fecales y luego transfiera 2 gotas (aproximadamente 50 µL) al tubo de recolección de muestras que contiene el tampón de extracción.
- Vuelva a colocar el aplicador en el tubo y atornille bien la tapa. Tenga cuidado de no romper la punta del tubo de dilución.
- Agite vigorosamente el tubo de recogida de muestras para mezclar la muestra y el tampón de extracción. Las muestras preparadas en el tubo de recogida de muestras se pueden almacenar durante 6 meses a -20 °C si no se analizan en el plazo de 1 hora después de la preparación.

Para muestras Sólidas:

- Desenrosque y retire el aplicador del tubo de dilución.
- Tenga cuidado de no derramar o salpicar la solución del tubo.
- Recoja las muestras insertando el aplicador en al menos 3 sitios diferentes de las heces para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 de un guisante).

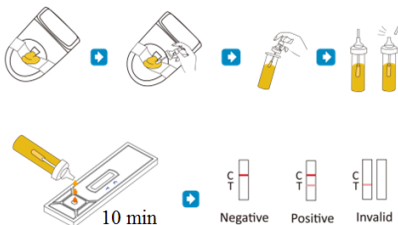
Para muestras líquidas:

- Sostenga la pipeta verticalmente, aspire las muestras fecales y luego transfiera 2 gotas (aproximadamente 50 µL) al tubo de recolección de muestras que contiene el tampón de extracción.
- Vuelva a colocar el aplicador en el tubo y atornille bien la tapa. Tenga cuidado de no romper la punta del tubo de dilución.
- Agite vigorosamente el tubo de recogida de muestras para mezclar la muestra y el tampón de extracción. Las muestras preparadas en el tubo de recogida de muestras se pueden almacenar durante 6 meses a -20 °C si no se analizan en el plazo de 1 hora después de la preparación.

2. Analizando la Muestra:

- Retire el cassette de prueba de su envase sellado y colóquelo sobre una superficie limpia y nivelada. Etiquete el cassette con la identificación del paciente o del control. Para obtener el mejor resultado, el ensayo debe realizarse en el plazo de una hora.
- Rompa cuidadosamente la punta del tubo de dilución con la muestra. Sostenga el tubo verticalmente y dispense 2 gotas de solución en el pocillo de la muestra (S) del cassette.
- Evite que entren burbujas de aire en el pocillo (S) del cassette, y no deje caer ninguna solución en la ventana de observación.
- A medida que la prueba comience a funcionar, verá que el color se mueve a través de la membrana.
- Espera a que aparezcan las bandas de colores. El resultado debe leerse a los 10 minutos. No interprete el resultado después de 20 minutos.

Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue las muestras extraídas contenidas en el vial de tampón de extracción. Recoja 80 µL de sobrenadante, dispense en el pocillo de muestra (S) de un nuevo dispositivo de prueba y comience de nuevo siguiendo las instrucciones mencionadas anteriormente.



INTERPRETATION OF RESULTS



POSITIVO: Aparecen dos bandas de colores, una en la región de control (C) y otra en la región de prueba (T).



NEGATIVO: Solo aparece una banda de color, en la región de control (C). No aparece ninguna banda de color aparente en la región de prueba (T).



INVALIDO: La banda de control NO aparece. Los resultados de cualquier prueba que no haya producido una banda de control en el tiempo de lectura especificado deben desecharse. Revise el procedimiento y repita con una nueva prueba. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y comuníquese con ALATHEIA.

NOTA:

- La intensidad del color en la región de prueba (T) puede variar según la concentración de analitos presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier matiz de color en la región de prueba debe considerarse positivo. Tenga en cuenta que esta es solo una prueba cualitativa y no puede determinar la concentración de analitos en la muestra.
- Un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento operativo incorrecto, o las usar dispositivos y reactivos vencidos son las razones más probables de la falla de la banda de control.

CONTROL DE CALIDAD

Controles de Procedimiento Interno

- El cassette de prueba rápida de adenovirus tiene controles (de procedimiento) integrados. Cada cassette de prueba tiene una zona estándar interna para garantizar un flujo de muestra adecuado. El usuario debe confirmar que el color ROJO ubicado en la línea "C" está presente antes de leer el resultado.

Controles positivos y negativos externos

- Las buenas prácticas de laboratorio sugieren probar controles externos positivos y negativos para garantizar que los reactivos de la prueba funcionen y que la prueba se realice correctamente.

LIMITACIONES DEL TEST

- El cassette de prueba rápida de Rotavirus es para uso profesional de *diagnóstico in vitro* y solo debe usarse para la detección cualitativa del virus. No se debe inferir ningún significado a la intensidad del color o el ancho de las bandas aparentes.
- Como en todos los test de laboratorio, no se debe concluir un diagnóstico con solo un resultado, este debe ser dado considerando todos los aspectos clínicos del paciente y otros exámenes
- Si el resultado de la prueba es negativa, pero los síntomas clínicos persisten, se recomienda tomar otros test. Un resultado negativo también puede deberse a una infección por rotavirus con una baja carga viral.

DESEMPEÑO Y CARACTERISTICAS DEL TEST

Table 1: Rotavirus Rapid Test vs. ELISA

Relative Sensitivity:	Rotavirus Rapid Test			Total
	+	-		
>96.3%				
Relative Specificity:	ELISA			
>99.9%	+	79	3	82
Overall Agreement:	-	0	160	160
>98.8%		79	163	242

Specificity:

Se ha estudiado la reactividad cruzada con los siguientes organismos a 1,0 x 10⁹ organismos/mL. Los siguientes organismos resultaron negativos cuando se analizaron con el dispositivo de prueba rápida de rotavirus (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	

LITERATURE REFERENCES

1. WILHELM 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

GLOSSARY OF SYMBOLS

r	Catalog number	0	Temperature limitation
i	Consult instructions for use	L	Batch code
l	In vitro diagnostic medical device	e	Use by
m	Manufacturer	T	Contains sufficient for <n> tests
s	Do not reuse	A	Authorized representative in the European Community
U	CE marking according to IVD Medical Devices Directive 98/79/EC		



Assure Tech. (Hangzhou) Co., Ltd.
 Building 4, No. 1418-50, Moganshan Road,
 Gongshu District, Hangzhou,
 310011 Zhejiang, P.R. China
 contact@diareagent.com



Lotus NL B.V.
 Koningin Julianaplein 10, le Verd,
 2595AA, The Hague, Netherlands



Representante Exclusivo para Chile:

Alatheia 

Avenida del Valle Norte 945, Oficina 5610
 Huechuraba, Santiago, Chile
 TEL: +56 22 343 5122
 info@alatheia.cl
 www.alatheia.cl