

ROTADENET

(Heces)

RA 0325/01 **Registro Sanitario: 2789R2024SSA**
REF DMRAVO1

Uso deseado

La prueba rápida ROTADENET (heces) es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral para la detección cualitativa y diferencial de antígenos de rotavirus y adenovirus en muestras de heces.

Resumen

El rotavirus es un virus con forma de rueda, posee ARN bicatenario, no tiene envoltura y es estable a temperatura ambiente. Se transmite principalmente por vía oral-fecal, aunque también puede ser por ingerir agua y/o alimentos contaminados con este patógeno. Los síntomas característicos son vómitos, diarrea, fiebre entre otros. El grupo más vulnerable son los niños y bebés, a diferencia de los adultos que incluso pueden no presentar síntomas. El diagnóstico puede ser realizado mediante una prueba rápida de antígeno o reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR). En cuanto al tratamiento es inespecífico y el propio sistema inmune suele resolverlo, no obstante, se recomienda realizar la vacuna, en especial a bebés [1].

Los adenovirus son virus de ADN que están relacionados con infecciones respiratorias, del tracto digestivo o conjuntival. Este virus es muy común en niños, es especial en aquellos con un sistema inmune débil o inmunosuprimidos. Su transmisión es por contacto directo con el virus y los síntomas pueden variar según el serotipo, aunque se destacan síntomas como fiebre, deshidratación, falta de sueño, gastroenteritis etc. Para el diagnóstico de este patógeno se requieren de análisis de sangre, fluidos de ojos, nariz o hisopado de garganta, muestras de heces o radiografía de tórax. El tratamiento puede variar, aunque no todos los enfermos lo requieren y si bien existen vacunas, estas no siempre están disponibles [2].

Es fundamental que se busque prevenir su contagio, por lo que, identificar a las personas infectadas ayudará a dicha meta [3].

Principio

La prueba rápida ROTADENET para la detección cualitativa y diferencial de antígenos de rotavirus y adenovirus en muestras de heces es un inmunoensayo cromatográfico de flujo lateral. La prueba consta de un cartucho, el cual contiene una membrana dividida en tres regiones: dos de prueba, una para rotavirus (T1) y otra para adenovirus (T2) que tienen impresos anticuerpos de captura anti-rotavirus y anti-adenovirus y una de control 'C' impreso con anticuerpos anti-ratón. La membrana también posee un conjugado conformado por nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anti-rotavirus y anti-adenovirus. Una vez que la muestra es depositada en el pozo 'S' del cartucho con la solución de corrimiento, esta reaccionará con el conjugado y migrará a través de la membrana por acción capilar.

Si la muestra no contiene o tiene concentraciones de antígeno de rotavirus y/o adenovirus por debajo del límite de detección no se formará una línea de color en las regiones T1 y/o T2, esto indica un resultado negativo. Por el contrario, si la muestra contiene concentraciones de antígeno de rotavirus y/o adenovirus mayores al límite de detección se formará una línea de color en las regiones T1 y/o T2 esto indica un resultado positivo. La prueba tiene un control 'región C', donde siempre debe de aparecer una línea de color, esto indica que se agregó la cantidad apropiada de muestra y el procedimiento se realizó exitosamente.

Reactivos

La prueba contiene un conjugado nanopartículas de oro coloidal recubiertas con anti-rotavirus y anti-adenovirus, anticuerpos de captura anti-rotavirus y anti-adenovirus y anticuerpos anti-ratón.

Precauciones

Lea toda la información de este instructivo antes de realizar la prueba:

- Para uso profesional *in vitro*.
- Manipular todas las muestras como si tuvieran agentes infecciosos.
- No utilizar la prueba después de la fecha de caducidad.
- No comer, beber ni fumar en el área donde se manejan las muestras y las pruebas.
- No utilizar la prueba si la bolsa está dañada.
- Utilizar bata, guantes desechables y protección para los ojos cuando las muestras se estén procesando.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones aplicables.
- La humedad y la temperatura pueden afectar adversamente los resultados.
- No mezclar componentes de diferentes lotes.

Almacenamiento y estabilidad de la prueba

- Almacene la prueba en la bolsa sellada a temperatura ambiente (15-30°C).
Nota: No congele la prueba.
- La prueba es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsa.

Materiales

Suministrados:

- Prueba rápida en cartucho
- Tubo colector con solución de corrimiento (buffer)
- Instructivo de uso
- Gotero

Requeridos, pero no suministrados:

- Temporizador
- Contenedor de muestra (s)

Opcionales

- Centrifuga

Recolección de muestra

Realice los pasos que se describen a continuación:

- Coloque entre 1-2 mL o 1-2 gramos de heces (equivalente al tamaño de una nuez) en un contenedor de recolección de muestras que esté estéril y seco.
Nota: Para obtener mejores resultados realice el análisis de la muestra dentro de las 6 horas posteriores a su recolección.

Almacenamiento y estabilidad de la muestra

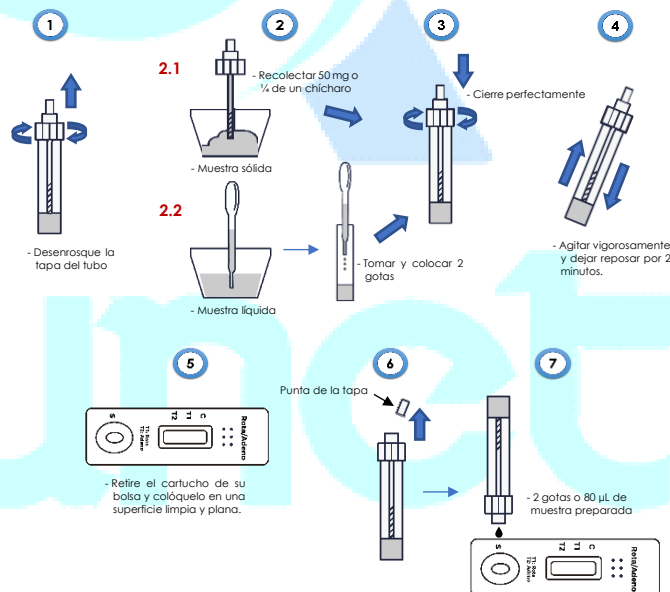
- La muestra debe ser recolectada y almacenada en un recipiente estéril, seco e impermeable sin detergentes, conservadores o medios de transporte.
- No dejar las muestras a temperatura ambiente durante más de 3 horas.
- Almacene la muestra por máximo 3 días a una temperatura de 2-8 °C.
- Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben de almacenarse por debajo de los -20 °C.
- Si las muestras deben enviarse, deben empaquetarse de acuerdo con las regulaciones locales que cubren el transporte de agentes etiológicos.

RECOMENDACIÓN: Para una detección óptima la muestra debe de ser recolectada entre el primer y cuarto día de la enfermedad o como máximo dentro de esa semana, si bien el virus puede estar presente hasta por 3 semanas o más, esto dependerá de la gravedad de la enfermedad [4,5].

Instrucciones de uso

Permita que la prueba, muestra y solución de corrimiento alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar el ensayo. Siga los pasos que se describen a continuación:

- 1) Tome el tubo colector y desenrosque la tapa.
 - 2) Realice en función de la disponibilidad del tipo de muestra.
2.1 Para muestras sólidas:
Pinche la muestra con el aplicador del tubo colector de forma aleatoria al menos 3 veces en sitios diferentes hasta recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a ¼ de un chicharo).
2.2 Para muestras líquidas:
Con Ayuda de un gotero recolecte 2 gotas de muestra (aproximadamente 80 µL) y transfíralas al tubo colector.
 - 3) Una vez colocada la muestra en el tubo, ciérrelo perfectamente.
 - 4) Proceda a agitar el tubo vigorosamente y después déjelo reposar por 2 minutos.
 - 5) Retire una prueba de la bolsa sellada y utilícela inmediatamente. Coloque el cartucho sobre una superficie limpia y nivelada.
 - 6) Desenrosque la punta de la tapa del tubo preparado.
 - 7) Coloque 2 gotas (aproximadamente 80 µL) en el pozo 'S' del cartucho. Inicie un temporizador e interprete el resultado a los 10 minutos. No interprete el resultado después de los 15 minutos.
- Nota 1: Evite generar burbujas a la hora de depositar la muestra.
Nota 2: En caso de que las partículas no permitan una correcta migración, centrifugue la muestra preparada (muestra con reactivo de corrimiento) y repita este paso directamente colocando las 2 gotas.



Interpretación de resultados



(Consulte la ilustración anterior)

POSITIVO: Aparece una línea de color en la región control (C) y otra línea de color en la región de prueba T1 positivo a la presencia de antígenos de rotavirus; Si esta se ve en la región de prueba T2 es positivo a la presencia de antígenos de adenovirus, pero si se visualiza una línea de color en cada región de prueba (T1 y T2) es positivo a la presencia de antígenos tanto de rotavirus como de adenovirus.

NOTA: La intensidad del color en las regiones de prueba T1/T2 puede variar, por lo que, cualquier tono de color en dicha región debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en las regiones de la línea de prueba T1/T2.

INVÁLIDO: La línea de control no aparece. Un volumen de muestra insuficiente o técnicas de procedimiento incorrectas, suelen ser las razones más probables de la falla de dicha línea. Revise el procedimiento y repita la prueba, si el problema persiste deje de usar el cartucho inmediatamente y comuníquese con su distribuidor más cercano.

Control de calidad

Un control interno del procedimiento está incluido en la prueba. Una línea de color aparece en la región C confirmando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento se realizó exitosamente. No se suministran controles positivos ni negativos con esta prueba, sin embargo, se recomienda su uso como parte de las buenas prácticas de laboratorio (BPL).

Limitaciones

- 1. La prueba rápida de ROTADENET es solo para diagnóstico *in vitro*.
- 2. El resultado de esta prueba solamente es cualitativo.
- 3. Como con todas las pruebas de diagnósticos, todos los resultados deben considerarse con otra información clínica disponible para el médico.
- 4. Si el resultado de la prueba es negativo y la sintomatología persiste, se sugieren pruebas de seguimiento adicionales con otros métodos clínicos.
- 5. Esta prueba tiene un mejor desempeño en el pico de la enfermedad, por lo que analizar muestras después de ese periodo podría no haber suficientes antígenos para ser detectados.

Valores esperados

La prueba rápida de ROTADENET para la detección cualitativa y diferencial de antígenos de rotavirus y adenovirus en heces fue comparada con otra prueba rápida para rotavirus y adenovirus, se obtuvo una precisión global de >99%.

Características de desempeño

Sensibilidad, Especificidad y Precisión

Se utilizó la prueba rápida ROTADENET para procesar un total de 510 muestras de adultos y niños, de las cuales solo 80 muestras procedían de personas con síntomas característicos con una duración de entre 3 y 5 días, estos fueron: diarrea líquida, fiebre, vómitos, infección de oído o estómago, deshidratación entre otros. Los resultados de las 510 muestras fueron confirmados por medio de una prueba líder de rotavirus y adenovirus, en la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos de forma independiente:

• ROTAVIRUS

Método	Prueba rápida comercial		Resultados totales
	Resultados	Positivo	
	Positivo	68	1
ROTADENET (heces)	Negativo	2	439
	Resultados totales	70	440

Sensibilidad: 97.14% (95% IC: 95.31%-98.27%)
Especificidad: 99.77% (95% IC: 98.85%-99.96%)
Precisión: 99.41% (95% IC: 98.28%-99.80%)
IC: Intervalo de Confianza

• ADENOVIRUS

Método	Prueba rápida comercial		Resultados totales
	Resultados	Positivo	
	Positivo	24	1
ROTADENET (heces)	Negativo	1	484
	Resultados totales	25	485

Sensibilidad: 96.00% (95% IC: 93.93%-97.39%)
Especificidad: 99.79% (95% IC: 98.88%-99.96%)
Precisión: 99.61% (95% IC: 98.28%-99.80%)
IC: Intervalo de Confianza

Precisión
Intra-lote

La repetibilidad de la prueba fue determinada utilizando 20 réplicas empleando dos concentraciones por encima del límite de detección y una libre de antígeno de rotavirus/adenovirus. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Inter-lote

La reproducibilidad de la prueba fue determinada mediante 20 réplicas de 3 lotes diferentes realizados en 2 días empleando dos concentraciones por encima del límite de detección y una libre de antígeno de rotavirus/adenovirus. Las muestras fueron correctamente identificadas el 99.99% de las veces.

Sustancias interferentes

Se analizaron las siguientes sustancias utilizando la prueba rápida ROTADENET, no se observó ninguna interferencia.

- 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)
- Bilirubina (100 mg/dL)
- Urea (2000 mg/dL)
- Sangre 1% v/v

Reactividad cruzada

Se analizaron muestras positivas a determinados microorganismos con la prueba rápida ROTADENET, se realizaron 20 réplicas por cada uno, se incluyó una muestra positiva y negativa a rotavirus/adenovirus. Ninguno presentó reactividad cruzada.

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

Referencias

- [1]. CDC. (2021). Rotavirus. Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades.
- [2]. Otto, W. R. (2022). Infecciones por adenovirus en bebés y niños. American Academy of Pediatrics Section on Infectious Diseases.
- [3]. Stanford Medicine Children’s Health. Infecciones por adenovirus.
- [4]. Public Health Laboratory Network. (2011). Rotavirus, Laboratory case definition.
- [5]. CDC. (2023). Laboratory Testing and Specimen Collection.

Índice de símbolos

	Consultar instructivo de uso		Caducidad
	Solo para evaluación de desempeño <i>in vitro</i>		Número de catálogo
	Almacenar entre 15 – 30 °C.		Número de lote
	No utilizar si el paquete está dañado		No reutilizar