

RIDA[®] Quick
Rotavirus/Adenovirus Combi

Art. n°.: N 1002



R-Biopharm AG, Landwehrstr. D-64293 Darmstadt, Alemania
Telf.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Área de aplicación

Para el diagnóstico *in vitro*. El RIDA® Quick Rotavirus/Adenovirus Combi es un test inmunocromatográfico rápido para la identificación cualitativa de Rotavirus y/o Adenovirus en muestras de heces.

2. Resumen y explicación del test

Los **Adenovirus** fueron descubiertos en 1953 por Rowe y colaboradores en tejido adenoideo. Rápidamente se reconoció su significación etiológica en enfermedades respiratorias agudas. Los adenovirus pueden provocar faringitis agudas, fiebre faringoconjuntival, bronquitis y neumonías. En niños menores de 5 años se atribuye el 5 % de las enfermedades respiratorias agudas a los adenovirus. Alrededor del 10 % de las neumonías en edad infantil son provocadas por adenovirus. La importancia de los adenovirus en las afecciones gastrointestinales fue por largo tiempo motivo de duda. Entretanto se ha comprobado que algunos tipos particulares de adenovirus, los cuales en cultivos celulares presentan dificultades para su crecimiento, son efectivamente causantes de enfermedades gastrointestinales. En niños con gastroenteritis agudas han sido detectados adenovirus en 4 - 14 % de las muestras de heces analizadas. Ellos son, por tanto, después de los rotavirus la segunda causa más frecuente para esta sintomatología en la edad infantil. Se han reportado también epidemias por adenovirus enterales. Al igual que en los rotavirus es importante, para evitar infecciones nosocomiales, realizar un diagnóstico exacto del agente causante.

Las infecciones por **Rotavirus** aparecen de forma masiva en los meses de invierno. Endemias y epidemias han sido descritas también con algunos miles de enfermos afectados. En niños hospitalizados con enteritis aguda se ha encontrado hasta un 50 % de muestras positivas de rotavirus. Los rotavirus transmitidos por vía fecal-oral se segregan en grandes cantidades en el intestino, en tal medida que las infecciones nosocomiales por rotavirus son particularmente temidas en las estaciones de lactantes y clínicas infantiles, con la agravante además, de que su control presenta dificultades. Una identificación temprana y confiable de la presencia de los rotavirus es por consiguiente muy importante para evitar más infecciones. Los Rotavirus son los agentes patógenos más importantes de la gastroenteritis no-bacteriana en niños desde 6 meses hasta 3 años. Sin embargo también son detectados en niños mayores y en adultos como causa de la enfermedad. En grupos de riesgo, o sea en niños y en pacientes viejos o inmunosuprimidos, este virus pueden provocar la muerte.

3. Fundamento del test

El presente Test Rápido es una prueba inmunocromatográfica de flujo lateral de un solo paso, en la cual los anticuerpos específicos dirigidos contra ambos virus están acoplados a partículas rojas (específico para Rotavirus) o azules (específico para Adenovirus) de látex. Otros anticuerpos específicos contra ambos agentes patógenos están unidos fuertemente sobre la membrana. Primeramente se suspende la muestra de heces en el buffer de extracción y se deja sedimentar. La tira de prueba se sumerge en el sobrenadante de la muestra, aquí ésta se une con las partículas coloreadas de látex, y en caso positivo se acopla al anticuerpo presente; atraviesa la membrana y se enlaza con las bandas específicas de captura. Según el antígeno presente en la muestra se observará una banda azul y / o una banda roja.

4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 25 determinaciones

Strip	25 determ.	Tubito con 25 tiras de prueba
Diluent	30 ml	Buffer de extracción, listo para el uso; contiene azida de sodio al 0,1 %
Pipet	25 piezas	Bolsa con 25 pipetas desechables

5. Reactivos y su almacenamiento

El envase se puede conservar entre 2 – 30 °C y se puede usar hasta la fecha de vencimiento impresa en la etiqueta. Después de la fecha de vencimiento no se asumen garantías de calidad. El tubito con la tira de prueba contiene un agente desecante y no debe dejarse abierto para evitar la entrada de humedad. Se debe por tanto cerrar cuidadosamente después de sacar cada una de las tiras.

6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos

- Tubitos de muestras para las suspensiones de heces
- Tubitos (opcional: pocillos de microplaca sin recubrir) para suspensión sobrenadante
- Agitador Vortex (opcional)
- Micropipetas (200 µl -1000 µl)
- Recipiente de desechos con una solución de hipoclorito de sodio al 0,5 %

7. Medidas de seguridad

Sólo para el diagnóstico *in vitro*.

Este test debe ser realizado solamente por personal calificado de laboratorio. Se deben observar las líneas directivas de trabajo para laboratorios médicos. Las instrucciones para el uso del test deben cumplirse estrictamente.

El buffer de dilución de muestras contiene azida de sodio como agente conservante. Se debe evitar por tanto el contacto con la piel o mucosas.

No se debe pipetear las muestras o reactivos con la boca, así como también evitar el contacto con piel lesionada o mucosas. Durante el trabajo con las muestras deben usarse guantes desechables y lavar las manos después del test. En los locales donde se trabaje con las muestras no está permitido fumar, comer o beber.

Todos los materiales y reactivos que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas se requiere que sean tratados con agentes desinfectantes adecuados (por ej. hipoclorito de sodio) o se sometan a autoclave por lo menos una hora a 121 °C.

8. Recolección y conservación de las muestras

Las muestras de heces se deben coleccionar en recipientes limpios sin ningún tipo de aditivo y conservar entre 2 – 8 °C antes del comienzo del test. Si se guarda por más 3 días, la muestra se debe congelar a -20 °C. En este caso la muestra se descongela completamente antes del inicio del test y se lleva a temperatura ambiente. Evite congelar y descongelar las muestras varias veces.

Si se van a utilizar frotis rectales se debe prestar atención a que haya suficiente material de heces (ca. 50 mg) para la realización del test.

9. Realización del test

9.1. Generalidades

Las muestras, el buffer de extracción y las tiras de prueba deben ajustarse a temperatura ambiente (20 – 25 °C) antes de proceder a utilizarlas. El frasco con las tiras de prueba sólo se debe abrir después de alcanzar la temperatura ambiente y cerrar nuevamente después de extraer las tiras que se necesiten. Las tiras de prueba que se hayan usado una vez no se pueden volver a utilizar. Se debe evitar la incidencia directa de la luz solar durante la realización del test.

Las cantidades sobrantes de reactivo no se deben retornar a los frascos, ya que esto puede provocar una contaminación.

9.2. Preparación de las muestras

En un tubo de ensayo rotulado se vierte 1 ml de buffer de extracción **Diluent**. En el caso de una muestra **líquida** de heces se aspiran con una pipeta desechable **Pipet** 100 µl (tomando hasta un poco por encima del segundo espesamiento) y se hace una suspensión en el tubo de ensayo con el buffer. En caso de muestras **sólidas** de heces se suspenden 50 mg en el buffer. Acto seguido se debe homogeneizar bien la muestra. Esto se efectúa mediante la aspiración y expulsión repetida de la suspensión con la pipeta desechable **Pipet** o alternativamente por agitación en un mezclador Vortex. Después se deja sedimentar la suspensión homogénea al menos **3 minutos** hasta que se forme un sobrenadante claro, del cual se transfieren por lo menos **200 µl**, hasta un máximo de **500 µl**, a otro tubo de ensayo limpio (o a un pocillo no recubierto de la microplaca).

9.3. Análisis de las muestras

La tira de prueba **Strip** se extrae del frasco y se sumerge en la muestra preparada. La tira de prueba sólo debe introducirse hasta un punto en que la línea marcada con las flechas no se sobrepase. Después de **5 minutos** se puede leer el resultado.

10. Control de calidad – Indicios de reactivos vencidos

El test sólo debe evaluarse si la tira de prueba está intacta **antes** de sumergirla en la suspensión preparada de la muestra y no se ven en ella cambios de coloración o bandas. Además es imprescindible que se vea **después** de la incubación del test por lo menos la banda **verde** de control. Si ésta no aparece, se deben hacer las siguientes comprobaciones antes de repetir el test:

- Durabilidad de las tiras de prueba y del buffer de extracción utilizado
- Ejecución correcta del test
- Contaminación del buffer de extracción

Si entonces en la repetición del test con una nueva tira tampoco es visible la banda de control, Ud. se debe dirigir al fabricante o a su distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

Como máximo deben aparecer solamente tres bandas, vistas desde el punto de absorción de muestra y en el siguiente orden: Una banda azul, una roja y una verde (banda de control). **¡ Si no aparece la banda verde de control el test no es evaluable y por tanto inválido !**

Las siguientes interpretaciones son posibles:

- **Adenovirus positivo:** banda **azul** y banda **verde** son visibles.
- **Rotavirus positivo:** banda **roja** y banda **verde** son visibles.
- **Adenovirus y Rotavirus positivos:** banda **azul**, banda **roja** y banda **verde** son visibles.
- **Negativo:** Sólo la banda **verde** es visible.
- **Inválido:** no hay bandas visibles, o existe otra situación diferente a la descrita más arriba, así como otras coloraciones de las bandas. Igualmente si hay coloraciones de bandas que aparecen a los 10 minutos o más tarde, éstas se deben evaluar como carentes de valor diagnóstico.

12. Limitaciones del método

El test RIDA® Quick Rotavirus/Adenovirus Combi detecta antígenos de Rotavirus y/o Adenovirus en muestras de heces. No es posible establecer una relación entre la intensidad de la banda específica visible y la manifestación o gravedad de síntomas clínicos. **Los resultados obtenidos siempre deben interpretarse de conjunto con el cuadro clínico.**

Un resultado **positivo** no excluye la presencia de otros agentes infecciosos.

Un resultado **negativo** no excluye una posible infección por Rotavirus y/o Adenovirus. La causa de ello puede ser una excreción intermitente del agente patógeno o una cantidad demasiado baja de antígeno en la muestra. Si existe la sospecha anamnésica fundada de una infección con los agentes patógenos analizados se debe repetir el análisis a otra muestra de heces del paciente.

Un exceso de muestra de heces puede provocar bandas de color pardusco en lugar de las bandas con colores específicos. Estas bandas de color pardusco no tienen valor diagnóstico. En tales casos se debe realizar un nuevo análisis con una cantidad de heces menor o con una dilución más de la suspensión ya preparada (sobrenadante claro después de la sedimentación), para esclarecer si los agentes patógenos buscados están realmente presentes en la muestra y fueron enmascarados por usar demasiada matriz de heces.

13. Características de rendimiento

La sensibilidad y especificidad del presente test se comprobó con muestras clínicas mediante la comparación de los resultados con un método Elisa comercial. Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Adenovirus		RIDA® Quick	
Elisa	+	-	
+	9	1	
-	0	189	

Rotavirus		RIDA® Quick	
Elisa	+	-	
+	105	0	
-	1	95	

Sensibilidad: 100 %

Especificidad: 100 %

Valor predictivo positivo: 100 %

Valor predictivo negativo: 99,5 %

Sensibilidad: 100 %

Especificidad: 99 %

Valor predictivo positivo: 99,1 %

Valor predictivo negativo: 100 %

Bibliografía

1. Francki, R. I. B., Fauquet, C. M., Knudson, D. L., and Brown, F.: Classification and Nomenclature of Viruses. Fifth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Archives of Virology Supplement 2. Springer Verlag, New York, pp 140-144 (1992)
2. Estes, M.K. and Cohen, J.: Rotavirus Gene Structure and Function. Microbiological Reviews 53: 410-419 (1989)
3. Bishop, R. F., Davidson, G. P., Holmes, I. H. and Ruck, B. J.: Detection of a new virus by electron microscopy of faecal extracts from children with acute gastroenteritis. Lancet 1, 149-151 (1974)
4. Kapikian, A. Z., Yolken, R. H., Greenberg, H. B., Wyatt, R. G., Kalica, A. R., Chanock, R. M. and Kim, H. W.: Gastroenteritis viruses. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections, 5th Ed., (1980) Lennette, E. H., Schmidt, N. J., Eds. Amer. Pub. Health Assoc., Washington, D.C., 927-996
5. Flewett, T. H. and Woode, G. N.: The Rotavirus. Arch. Virology 57, 1-23 (1978)
6. Steinhoff, M. C: Rotavirus: The first five years. J. Ped. 96, 611-622 (1980)
7. Blacklow, N. R. and Cukor, G.: Viral Gastroenteritis. New England Journal of Medicine 304, 397-406 (1981)
8. Wenman, W. M., Hinde, D., Feltham, S. and Gurwith, M.: Rotavirus Infection in Adults. Results of a Prospective Study. New England Journal of Medicine 301, 303-306 (1979)
9. Cubitt, W. D.: Rotavirus Infection: An Unexpected Hazard in Units Caring for the Elderly. Geriatric Medicine Today 1, 33-38 (1982)
10. Marrie, T. J., Spencer, H. S., Faulkner, R. S., Ethier, J. and Young, C. H.: Rotavirus Infection in a Geriatric Population. Arch. Intern. Med. 142, 313-316 (1982)
11. Coulson, B. S. and Holmes, I. H.: An Improved Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Rotavirus in Faeces of Neonates. J. Virol. Methods 8, 165-179 (1984)
12. Hung, T., Wang, Ch., Fang, Z., Chou, Z., Chang, X., Liong, X., Chen, G., Yao, H., Chao, T., Ye, W., Den, S. and Chang, W.: Waterborne outbreak of Rotavirus Diarrhoea in Adults in China caused by a Novel Rotavirus. Lancet, 1139-1142 (1984)
13. Cukor, G., Perron, D. M., Hudson, R. and Blacklow, N. R.: Detection of Rotavirus in Human Stools by Using Monoclonal Antibody. J. Clin. Microbiol. 19, 888-892 (1984)
14. Horwitz, M.S.: Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, 477 - 495.
15. Wigand, R. and Th. Adrian: Die Diagnostik von Adenovirus-Infektionen. Internist 26, 109 - 112 (1985).
16. Wigand, R.: Klinische Relevanz von Adenovirusinfektionen. Laboratoriums-blätter 30, 118 - 123 (1980).
17. Brandt, C.D., H.W.Kim, A.J. Vargosdo, B.C. Jeffries, J.O. Arrobio, B.Rindge, R.H. Parrot and R.M. Chanock: Infections in 18.000 infants and children in a controlled study of

- respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. *Am. J. Epidemiol.* 90, 484 - 500 (1969).
18. Mallet, R., M. Riberre, F. Bonnenfant, B. Labrune and L. Reyrole: Les pneumopathies graves a adeno-virus. *Arch. Fr. Pediatr.* 23, 1057 - 1073 (1966).
 19. Takiff, H.F., S.E. Straus and C.F. Garon: Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteric adenoviruses in 293 cells. *Lancet* 2, 832 - 834 (1981).
 20. Herrmann, J.E., D.M. Perron-Henry, D. Stobbs-Walro and N.R. Blacklow: Preparation and characterization of monoclonal antibodies to enteric adenovirus types 40 and 41. *Arch. Virology* 94, 259 - 265 (1987).
 21. Uhnou, I., G. Wadell, L. Svensson and M.E. Johansson: Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. *J. Clin. Microbiol.* 20, 365 - 372 (1984).
 22. Kidd, A.H., E.H. Harley and M.J. Erasmus: Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization. *J. Clin. Microbiol.* 22, 934 - 939 (1985).
 23. Cukor G. and N.R. Blacklow: Human viral gastroenteritis. *Microbiological Reviews* 48, 157 - 179 (1984).
 24. Mogabgab, W.J.: Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959 - 1966. *Am. Rev. Respir. Dis.* 97, (345 - 358) (1968).
 25. Richmond, S.J., E.O. Caul, S.M. Dunn, C.R. Ashley, S.K.R. Clarken: An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. *Lancet* 1, 1178 - 1180 (1979).
 26. Chiba, S., S. Nakata, I. Nakamura, K. Tanigudi, S. Urasawa, K. Fujinaga and T. Nakao: Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 adenovirus. *Lancet* 2, 954 - 957 (1983).