

## RIDASCREEN® Rotavirus

**REF** C0901



## 1. Uso previsto

Para diagnósticos *in vitro*. RIDASCREEN® Rotavirus es un inmunoensayo enzimático para la identificación cualitativa de rotavirus en muestras de heces humanas.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

Los rotavirus son los principales patógenos responsables de gastroenteritis no bacteriana en niños de entre 6 meses y 3 años de edad. Pueden identificarse también como causa de enfermedad en niños mayores y adultos. En los grupos de riesgo (niños pequeños, personas de edad avanzada y pacientes inmunodeprimidos), estas infecciones pueden tener consecuencias fatales. Las infecciones con rotavirus se producen principalmente en los meses de invierno. Se han descrito asimismo endemias y epidemias con varios miles de pacientes afectados. En niños hospitalizados con enteritis aguda, hasta el 50% de las muestras examinadas fueron positivas para rotavirus. Los rotavirus se transmiten por vía fecal-oral y se excretan en grandes cantidades; las infecciones nosocomiales con rotavirus son muy temidas en las unidades neonatales y clínicas pediátricas debido, entre otras cosas, a que son difíciles de controlar. En consecuencia, es fundamental disponer de un método de identificación de rotavirus precoz y fiable que evite la propagación de la infección.

Los rotavirus no se detectaron hasta que fue posible examinar muestras de heces y material de biopsias intestinales bajo el microscopio electrónico; hoy día es el método de identificación estándar. Otro de los desarrollos es la identificación en cultivos celulares *in vitro*. Sin embargo, puesto que son complejos y laboriosos, no se utilizan como método rutinario para identificar rotavirus. Las pruebas serológicas solamente ayudan a confirmar un diagnóstico de enteritis por rotavirus porque los anticuerpos IgM no son detectables hasta el cinco días después de comenzar la enfermedad. Con este método no es posible realizar un diagnóstico precoz.

El test RIDASCREEN® Rotavirus es un inmunoensayo enzimático sencillo y muy sensible que favorece la identificación fiable y temprana de antígenos de rotavirus. Asimismo, permite procesar tamaños de muestras grandes en menos tiempo.

## 3. Principio del ensayo

En el ensayo RIDASCREEN® Rotavirus se utilizan anticuerpos monoclonales según el método tipo sandwich. La superficie de los pocillos de la placa está recubierta de un anticuerpo monoclonal contra el producto del 6.º gen viral (VP6), un antígeno específico del grupo que se encuentra en todos los rotavirus que causan enfermedades en humanos. Una suspensión de la muestra de heces analizada y las muestras control se pipetea en los pocillos de la placa junto con anticuerpos anti-rotavirus monoclonales biotinilados (conjugado 1) y se incuba todo a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Después de un paso de lavado, se añade conjugado de

poliperoxidasas y estreptavidina (conjugado 2) y se incuba nuevamente a temperatura ambiente (20 – 25 °C). Si una muestra de heces contiene rotavirus, se forma un complejo tipo sandwich compuesto de anticuerpos inmovilizados, los antígenos del rotavirus y los anticuerpos conjugados con el complejo de biotina, estreptavidina y peroxidasa. En el siguiente paso de lavado se elimina el conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina no unido. En las muestras positivas, la adición de un sustrato provoca que la coloración de la solución con el enzima unido vire de incolora a azul. La adición de un reactivo de parada provoca que la coloración cambie de azul a amarillo. La extinción es proporcional a la concentración de rotavirus presentes en la muestra.

#### 4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 96 determinaciones.

Plate	96	Placa de pocillos, 12 tiras de pocillos (divisibles) en el portatiras; recubiertos con los anticuerpos monoclonales (de ratón) anti-rotavirus
Diluent   1	100 ml	Tampón de dilución de muestra, solución salina tamponada con proteína, lista para usar, color azul
Wash buffer	100 ml	Tampón de lavado, solución salina tamponada con fosfato (concentración 10x); contiene timerosal 0,1 %
Control   +	2 ml	Control positivo, cultivo de rotavirus inactivado, listo para usar
Control   -	2 ml	Control negativo (tampón de dilución de muestra), listo para usar
Conjugate   1	13 ml	Anticuerpos monoclonales conjugados con biotina (ratón) contra los rotavirus en solución proteica estabilizada; listo para usar, color rojo
Conjugate   2	13 ml	Conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina en solución proteica estabilizada, listo para usar, color naranja
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrógeno/TMB; listo para usar
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N, listo para usar

Las sustancias peligrosas se indican de acuerdo a las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse a 2 - 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. Si se almacena a 2 - 8 °C, el tampón de lavado diluido puede utilizarse como máximo durante 4 semanas. Evitar la contaminación microbiana. Una vez alcanzada la fecha de caducidad, no es posible garantizar la calidad.

Abrir la bolsa de aluminio con tijeras sin que se rompa el precinto de seguridad. Retornar las tiras de pocillos que no se necesiten a la bolsa de aluminio y guardarlas inmediatamente a 2 - 8 °C.

El sustrato incoloro debe protegerse de la luz directa para evitar la descomposición o el viraje a color azul por efecto de la autooxidación. No utilizar el sustrato si ha virado a color azul.

## 6. Reactivos necesarios no suministrados

### 6.1 Reactivos necesarios

Los reactivos a continuación son necesarios para realizar la prueba RIDASCREEN® Rotavirus:

Reactivos
Agua destilada o desionizada

### 6.2 Equipo de laboratorio necesario

Los siguientes reactivos son necesarios para realizar la prueba RIDASCREEN® Rotavirus:

Equipo
Tubos de ensayo
Pipetas desechables (ref. Z0001)
Mezclador de vórtice (opcional, ver 9.3.)
Micropipeta de 50 - 100 µl y 1 ml
Probeta (1.000 ml)
Cronómetro
Dispositivo de lavado de placas de pocillos o pipetas multicanal (300 µl)
Fotómetro para placas de pocillos (450 nm y filtro de referencia de 620 - 650 nm)
Papel de filtro (toallas desechables)

## 7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Para diagnósticos *in vitro* exclusivamente.

Este ensayo debe realizarlo exclusivamente personal de laboratorio cualificado. Respetar las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Respetar siempre las instrucciones de uso de este ensayo.

No pipetear las muestras y los reactivos con la boca y evitar el contacto con lesiones de la piel y mucosas. Llevar equipo de protección personal (guantes, bata, gafas de protección) al manipular las muestras y lavar las manos después de finalizar el ensayo. No fumar, comer o beber en las zonas en que se procesen las muestras.

Para más información, consultar la hoja de datos de seguridad (MSDS) en [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

El kit incluye un control positivo que contiene un cultivo de rotavirus inactivado. Debe tratarse como material potencialmente infeccioso y manejarse de acuerdo con lo establecido en las normativas de seguridad nacionales, igual que las muestras de los pacientes.

El tampón de lavado contiene timerosal 0,1 % como conservante. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel o con las mucosas.

Los reactivos y el material usados deben desecharse de forma correcta y responsable. Respetar la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

## 8. Obtención y almacenamiento de muestras

Las muestras de heces deben obtenerse lo antes posible, siempre en el plazo de tres días después de los primeros síntomas de diarrea. Guardar el material del ensayo a 2 - 8 °C hasta que se vaya a usar. Si el material no puede utilizarse en ensayos hasta dentro de tres días, recomendamos almacenarlo a como mínimo a -20 °C. Si el material no puede utilizarse en ensayos hasta dentro de tres días, recomendamos almacenarlo a como mínimo a -20 °C. No congelar y descongelar la muestra innecesariamente. Después de diluir una muestra de heces en tampón de dilución 1:11, puede almacenarse a 2 - 8 °C y utilizarse en un plazo de tres días (Tabla 1).

**Tabla 1:** Almacenamiento de muestras

Muestras de heces sin diluir		Muestras de heces sin diluir
2 - 8 °C	≤ -20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 días	> 3 días	≤ 3 días

No guardar las muestras de heces y los frotis rectales en recipientes de transporte que contengan materiales con conservantes, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes porque pueden interferir con el ensayo RIDASCREEN® Rotavirus.

En caso de utilizar frotis rectales, comprobar si el volumen de material fecal es suficiente (aprox. 100 mg) para el ensayo.

La localización de contactos debe incluir pruebas de muestras de heces de personas contactadas que no presenten síntomas clínicos para poder identificar portadores asintomáticos.

## 9. Ejecución de la prueba

### 9.1 Información general

Los reactivos y la placa de pocillos **Plate** deben adquirir temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de utilizarlos. No sacar las tiras de pocillos de la bolsa de aluminio hasta que hayan alcanzado temperatura ambiente. Mezclar a fondo los reactivos inmediatamente antes de usarlos. Después de usar, volver a almacenar las tiras de pocillos (en bolsas de aluminio) y los reactivos a 2 – 8 °C. Desechar las tiras de pocillos usadas. No utilizar los reactivos y las tiras de pocillos en caso si el envase está dañado o los viales tienen pérdidas.

Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit.

No realizar el ensayo en condiciones de luz solar directa. Recomendamos cubrir la placa de pocillos o colocar encima un envoltorio plástico para evitar pérdidas por evaporación.

### 9.2 Preparación del tampón de lavado

Mezclar 1 parte de tampón de lavado concentrado **Wash buffer** con 9 partes de agua destilada. Calentar previamente el concentrado en baño maría a 37 °C para disolver los posibles cristales presentes.

### 9.3 Preparación de las muestras

Llenar un tubo de ensayo etiquetado con un 1 ml de tampón de dilución de muestra RIDASCREEN® **Diluent 1**. Utilizar una pipeta desechable (ref. Z0001) para extraer una muestra de heces fluida (aprox. 100 µl) hasta justo por encima de la segunda marca y añadirla al tampón del tubo de ensayo para formar una suspensión. Para formar una suspensión con una muestra de heces sólida, añadir una cantidad equivalente (aprox. 50 - 100 mg) con una espátula o asa de siembra desechable. Homogeneizar la suspensión de heces mediante aspiración y eyección con una pipeta desechable o mediante agitación en un mezclador de vórtice. Dejar reposar brevemente (10 min.) la suspensión para que sedimenten las partículas de heces gruesas; el sobrenadante clarificado de la suspensión puede usarse directamente en el ensayo. Si el procedimiento de ensayo se realiza en un sistema ELISA

automatizado, el sobrenadante debe estar libre de partículas. En este caso, es recomendable centrifugar la muestra a 2.500 G durante 5 minutos.

Fill a labelled test tube with 1 ml RIDASCREEN<sup>®</sup> sample dilution buffer **Diluent | 1**.

**Nota: Las muestras de heces diluidas en **Diluent | 1** pueden analizarse en todos los RIDASCREEN<sup>®</sup> ELISA para los que se utilice **Diluent | 1**.**

#### 9.4 Primera incubación

Después de llenar un número suficiente de pocillos del portatiras, pipetear 100 µl del **Control | +** positivo, del **Control | -** o de la suspensión de muestras de heces a los pocillos. Acto seguido, añadir 100 µl del anticuerpo conjugado con biotina **Conjugate | 1** y mezclar (golpeando suavemente contra un lado de la placa); incubar a temperatura ambiente (20 – 25 °C) durante 60 minutos.

#### 9.5 Lavado

Es fundamental realizar un lavado exhaustivo si quieren obtenerse resultados correctos y, en consecuencia, deben respetarse rigurosamente los pasos de lavado especificados en las instrucciones. Vaciar las sustancias incubadas en los pocillos en un recipiente de residuos para eliminarlas de acuerdo con la normativa local en materia de eliminación de residuos. Acto seguido, sacudir la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad restante. A continuación, lavar la placa cinco veces con 300 µl de tampón de lavado **Wash buffer** cada vez. Después de cada paso de lavado, sacudir los pocillos sobre una pieza de papel absorbente seco y limpio para verificar que están completamente vacíos.

Si se utiliza un equipo de limpieza de microplacas o un equipo ELISA automático, comprobar si el equipo está ajustado correctamente; solicitar los ajustes al fabricante, si es preciso. Los equipos suministrados por R-Biopharm están programados con ajustes y protocolos de trabajo validados. A fin de no bloquear las boquillas de lavado, utilizar solamente suspensiones de heces libres de partículas (ver punto 9.3., Preparación de las muestras). Verificar asimismo que se ha aspirado completamente el líquido en cada paso de lavado.

#### 9.6 Segunda incubación

Pipetear 100 µl de conjugado de poliperoxidasa y estreptavidina **Conjugate | 2** en los pocillos e incubar a temperatura ambiente (20 – 25 °C) durante 30 min.

#### 9.7 Lavado

Lavar según se ha descrito en el punto 9.5.

### 9.8 Tercera incubación

Llenar todos los pocillos con 100 µl de sustrato **Substrate**. Incubar la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 15 minutos en la cámara oscura. A continuación, llenar todos los pocillos con 50 µl de reactivo de parada **Stop** para detener la reacción. Después de mezclar con precaución golpeando suavemente contra un lado de la placa, medir la extinción a 450 nm (opcionalmente a 450/620 nm). Ajustar el punto cero en el aire, es decir, sin la placa de pocillos.

**Nota: En las muestras de pacientes con positivo alto pueden formarse precipitados de sustrato de color negro.**

### 10. Control de calidad: indicación de inestabilidad o caducidad de los reactivos

A efectos de control de calidad, deben utilizarse controles positivos y negativos cada vez que se realice el ensayo con objeto de garantizar que los reactivos son estables y que el ensayo se realiza correctamente. El ensayo se habrá realizado correctamente si la tasa de extinción (DO) de control negativo es menor que 0,2 a 450 nm (menor que 0,160 a 450/620 nm) y el valor medido para el control positivo es mayor que 0,8 a 450 nm o a 450/620 nm. Un valor mayor que 0,2 (0,160) para el control negativo puede indicar que el lavado no ha sido suficiente. Las desviaciones de los valores requeridos, como turbidez o coloración azul del sustrato incoloro antes de introducirlo en los pocillos, puede indicar que los reactivos han caducado. Si no se cumplen los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Funcionamiento de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- Procedimiento de ensayo correcto
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas; no utilizar soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si los requisitos siguen sin cumplirse después de repetir el ensayo, consultar al fabricante o al distribuidor local de R-Biopharm.



## **11. Evaluación e interpretación**

### **11.1. Cálculo del corte**

Con objeto de establecer el corte, se añaden 0,15 unidades de extinción a la extinción medida para el control negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinción del control negativo} + 0,15$$

### **11.2. Resultados de la prueba**

La evaluación de la muestra es positiva si la tasa de extinción supera en más del 10 % el valor de corte calculado.

La evaluación de la muestra es marginal si la tasa de extinción está dentro de un rango 10% menor a 10 % mayor que el valor de corte. Si la repetición de la prueba de una muestra de heces fresca cae nuevamente dentro de la zona gris, la evaluación de la muestra es negativa.

Las muestras con extinciones inferiores en más del 10 % al valor de corte calculado deben considerarse negativas.

## **12. Limitaciones del método**

El ensayo RIDASCREEN® Rotavirus identifica los antígenos del rotavirus en muestras de heces. El nivel de extinción determinado no puede asociarse a la presencia o gravedad de los síntomas clínicos. Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro y los síntomas clínicos.

Un resultado positivo no permite descartar la presencia de otros patógenos infecciosos.

Un resultado negativo no permite descartar la posibilidad de infección con rotavirus. Este resultado puede deberse a la excreción intermitente del virus o a que la cantidad de antígeno en la muestra sea demasiado pequeña. Si la historia del paciente da pie a sospechar una infección con rotavirus, deberá repetirse la prueba con una muestra de heces diferente.

Un resultado límite puede deberse a la distribución no homogénea de los virus en la muestra de heces. En este caso, deberá repetirse la prueba con una segunda suspensión de la misma muestra o solicitarse una nueva muestra.

## 13. Características de rendimiento

### 13.1 Calidad del ensayo

El test RIDASCREEN® Rotavirus se validó mediante comparación con tres ELISA de rotavirus comerciales. El conjunto de muestras utilizado se compuso de muestras frescas tomadas el mismo día en un laboratorio de rutina y de muestras preparadas y congeladas previamente a - 20 °C para ser usadas en el estudio comparativo. Con cada uno de los ensayos ELISA se analizó una suspensión inicial según las instrucciones del fabricante. La muestra se consideró positiva o negativa si concordaban los resultados de dos de tres pruebas de referencia. Los resultados del estudio se resumen en la tabla 2.

**Tabla 2:** Correlación entre ELISA RIDASCREEN® Rotavirus y otros tres ELISA comerciales

RIDASCREEN® Rotavirus	ELISA de la competencia		Total
	+	-	
+	22	1*	23
-	1*	112	113
Total	23	113	136

\* Ambas muestras fueron negativas para rotavirus en la prueba PCR.

Sensibilidad : 95,7 %

Especificidad : 99,1 %

### 13.2 Reactividad cruzada

Se analizaron diferentes microorganismos patógenos del tracto intestinal con el ELISA RIDASCREEN® Rotavirus sin que pudiera observarse reactividad cruzada. Estos estudios se realizaron con suspensiones de bacterias con concentraciones de  $10^6$  a  $10^9$  organismos por ml. Los sobrenadantes de los cultivos víricos y las toxinas, además de las muestras de heces, se resumen en la lista correspondiente. Los resultados del estudio se resumen en la tabla 3.

**Tabla 3:** Reactividad cruzada con microorganismos patógenos

Organismo	Origen	Fuente	[OD 450 nm] Valor medio
<i>Acinetobacter Iwoffii</i>	Cultivo	DSM 2403	0,078
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Cultivo	DSM 30020	0,068
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Cultivo	DSM 30016	0,078
<i>Citrobacter sp.</i>	Cultivo	DSM 30047	0,055
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultivo	DSM 30039	0,090
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultivo	DSM 30054	0,072
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultivo	DSM 2570	0,066
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultivo	DSM 20477	0,095
<i>E. coli</i>	Cultivo	LMU Munich	0,069
<i>E. coli</i>	Cultivo	LMU Munich	0,082
<i>E. coli</i>	Cultivo	LMU Munich	0,083
<i>E. hermannii</i>	Cultivo	DSM 4560	0,054
<i>Lactococcus lactis</i>	Cultivo	DSM 20481	0,073
<i>Listeria innocua</i>	Cultivo	DSM 20649	0,078
<i>Proteus mirabilis</i>	Cultivo	DSM 788	0,053
<i>Proteus mirabilis</i>	Cultivo	DSM 4479	0,065
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultivo	DSM 30119	0,053
<i>Providencia stuartii</i>	Cultivo	DSM 6676	0,080
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultivo	DSM 939	0,065
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Cultivo	DSM 4358	0,061
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Cultivo	DSM 50124	0,082
<i>Pseudomonas putida</i>	Cultivo	DSM 291	0,058
<i>Salmonella agona</i>	Cultivo	LMU Munich	0,097
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Cultivo	DSM 4224	0,088
<i>Salmonella infantis</i>	Cultivo	LMU Munich	0,059
<i>Salmonella ohio</i>	Cultivo	LMU Munich	0,061
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultivo	DSM 554	0,052
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultivo	DSM 4487	0,050
<i>Shigella flexneri</i>	Cultivo	DSM 4782	0,063
<i>Shigella sonnei</i>	Cultivo	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultivo	DSM 20372	0,063
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Cultivo	DSM 2134	0,078
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Cultivo	DSM 20662	0,079

<i>Streptococcus uberis</i>	Cultivo	DSM 20569	0,072
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Cultivo	LMU Munich	0,097
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Cultivo	LMU Munich	0,074
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Cultivo	LMU Munich	0,084
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Cultivo	LMU Munich	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Cultivo	LMU Munich	0,086
<i>Candida albicans</i>	Cultivo	ATCC 10231	0,082
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultivo	DSM 9898	0,065
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultivo	DSM 4688	0,054
<i>Campylobacter coli</i>	Cultivo	DSM 4689	0,073
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultivo	DSM 5361	0,064
<i>Helicobacter pylori</i>	Cultivo	DSM 4867	0,053
<i>Morganella morganii</i>	Cultivo	DSM 6675	0,053
<i>Astrovirus</i>	Sobrenadante de cultivo	Micromun	0,055
<i>Astrovirus</i>	Heces	TU Dresden	0,080
<i>Adenovirus</i>	Sobrenadante de cultivo	Micromun	0,065
<i>Adenovirus</i>	Heces	TU Dresden	0,061
<i>H. pylori</i>	Inactivado Lisado de H. pylori	Kit control RIDASCREEN® H. pylori FemtoLab	0,082
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toxoide	Kit control C. perfringens Enterotoxin A	0,058
<i>Shigatoxin STX1</i>	Toxoide	Toxin Technology	0,064
<i>Shigatoxin STX2</i>	Toxoide	Toxin Technology	0,073
<i>C. sordellii</i>	Cultivo	tgcBiomics	0,060
<i>C. difficile</i>	Cultivo	VPI 1640	0,060
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultivo	Waterborne Inc.	0,052
<i>Campylobacter</i>	Heces	Routine lab	0,042
<i>Giardia lamblia</i>	Heces	TI Berlin	0,037
<i>Entamoeba histolytica</i>	Heces	TI Berlin	0,049
<i>Salmonella enteritidis</i>	Heces	Routine lab	0,066
<i>Sapovirus</i>	Heces	TU Dresden	0,062

### 13.3 Precisión

La reproducibilidad del ELISA RIDASCREEN® Rotavirus se analizó con seis referencias representativas del rango de medida completo, desde negativo a positivo alto.

Para determinar las reproducibilidad intraensayo se analizaron 40 réplicas de estas referencias. El kit 1 se analizó con el estándar de referencia 1 (RS 1) y los kits 2 y 3 se analizaron con el estándar de referencia 2 (RS 2). Se determinaron las medias y los coeficientes de variación (CV) para los tres lotes.

Para la reproducibilidad interensayo se analizaron referencias en forma de duplicados de diez días de trabajo diferentes, con dos ensayos por día. Las medidas fueron realizadas sobre tres lotes por tres técnicos.

La reproducibilidad interlote se determinó para dos lotes (lotes 2 y 3). Los resultados del estudio se muestran en la tabla 4.

**Tabla 4:** Reproducibilidad y precisión del ELISA RIDASCREEN® Rotavirus

Referencia	Media/ CV (%)	Intraensayo			Interensayo			Interlote
		Lote kit 1 (RS 1)	Lote kit 2 (RS 2)	Lote kit 3 (RS 2)	Lote kit 1 (RS 1)	Lote kit 2 (RS 2)	Lote kit 3 (RS 2)	Lote kit 2-3
1	MV	2,279	2,116	2,300	2,206	1,902	2,035	1,968
	CV (%)	4,82 %	9,38 %	6,86 %	11,78 %	20,30 %	18,33 %	19,42 %
2	MV	1,318	1,311	1,535	1,642	1,273	1,389	1,331
	CV (%)	8,87 %	10,67 %	5,00 %	14,82 %	25,42 %	21,61 %	23,70 %
3	MV	1,265	1,184	1,517	1,483	1,117	1,219	1,168
	CV (%)	9,82 %	13,36 %	5,25 %	15,00 %	22,68 %	21,43 %	22,01 %
4	MV	0,837	0,660	0,853	1,116	0,710	0,781	0,745
	CV (%)	10,26 %	15,12 %	4,53 %	17,26 %	25,81 %	24,37 %	25,36 %
5	MV	0,658	0,544	0,670	0,738	0,548	0,607	0,578
	CV (%)	9,94 %	14,99 %	4,85 %	17,78 %	25,43 %	26,14 %	26,21 %
6	MV	0,373	0,298	0,509	0,532	0,386	0,435	0,411
	CV (%)	9,85 %	15,38 %	7,43 %	17,94 %	28,90 %	27,73 %	28,87 %

### 13.4 Sensibilidad analítica

El límite de detección del ELISA RIDASCREEN® Rotavirus se determinó mediante la dilución seriada de una muestra de heces cuantificada mediante microscopía inmuno-electrónica (MIE). Las medidas se realizaron por triplicado, basadas en un título viral de  $10,6 \times 10^7$  partículas/ml. El límite de detección se definió como  $6,63 \times 10^3$  partículas víricas/ml de la muestra de heces. Los resultados de la serie de

titulación se muestran en la tabla 5. Obsérvese que el valor DO positivo del ELISA está provocado por partículas víricas intactas y también fragmentos víricos no incluidos en el recuento de MIE.

**Tabla 5:** Determinación de la sensibilidad analítica del ELISA RIDASCREEN® Rotavirus

MIE	RIDASCREEN® Rotavirus	
Partículas víricas / ml	Valor medio [OD 450]	Resultados
5,3 x 10 <sup>6</sup>	4,036	Positivo
5,3 x 10 <sup>5</sup>	4,043	Positivo
2,65 x 10 <sup>5</sup>	4,051	Positivo
1,325 x 10 <sup>5</sup>	4,060	Positivo
0,663 x 10 <sup>5</sup>	3,140	Positivo
5,3 x 10 <sup>4</sup>	2,022	Positivo
2,65 x 10 <sup>4</sup>	0,788	Positivo
1,325 x 10 <sup>4</sup>	0,451	Positivo
0,663 x 10 <sup>4</sup>	0,240	Positivo
0,332 x 10 <sup>4</sup>	0,124	Negativo
0,165 x 10 <sup>4</sup>	0,049	Negativo

### 13.5 Sustancias interferentes

Las siguientes sustancias no demostraron tener efectos en los resultados del ensayo al mezclarlas con muestras de heces positivas y negativas para rotavirus en las concentraciones descritas:










Mucinas	5,0 % p/p	Diclofenaco	0,00263 % v/p
Sangre humana	5,0 % v/p	Ciclamato	5,0 % v/p
Sulfato de bario	5,0 % p/p	Combinación de ácido esteárico y ácido palmítico	40 % p/p (mezcla 1:1)
Loperamida	5,0 % p/p		
Pepto-Bismol	5,0 % v/p	Metronidazole 0,5 % solución	5,0 % v/p

## 14. Historial de versiones






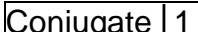
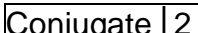
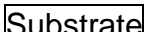

Número de versión	Capítulo y designación
2017-04-20	Versión anterior.
2019-07-08	Revisión general 4. Reactivos suministrados 8. Obtención y almacenamiento de muestras 9.2 Preparación del tampón de lavado 9.5 Lavado

## 15. Explicación de los símbolos

### Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

### Símbolos específicos de prueba

	Placa de pocillos
	Tampón de dilución de muestra
	Tampón de lavado
	Control positivo
	Control negativo
	Conjugado 1
	Conjugado 2
	Sustrato
	Reactivo de parada

## 16. Referencias bibliográficas

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., Liang, 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. Herrmann, J.E., Blacklow, N.R., Perron, D.M., Cukor, G., Krause, P.J., Hyams, J.S., Barrett, H.J. and Ogra, P.L.: Enzyme immunoassay with Monoclonal Antibody Enzyme Immunoassay for Detection of Rotavirus in Stool Specimens. J. Infect. Dis. 152, 830-832 (1985)
15. Yolken, R.H.: Enzyme Immunoassays for the Detection of Infectious Antigens in Body Fluids: Current Limitations and Future Prospects. Rev. Infect. Dis. 4, 35-68 (1982)



16. Eing, B.R. *et al*: Evaluation of Two Enzyme Immunoassays for Detection of Human *Rota-viruses in Fecal Specimens*. *J. Clin. Microbiology* 12/2001 p. 4532-4534