

# RIDA<sup>®</sup>QUICK Rotavirus

Art. n°.: N0903



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17. D-64297 Darmstadt, Alemania  
Teléfono: +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 es un test inmunocromatográfico rápido para la identificación cualitativa de Rotavirus en muestras de heces.

## 2. Resumen y explicación del test

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. Las infecciones por Rotavirus aparecen de forma masiva en los meses de invierno. Se han descrito también epidemias y epidemias con algunos miles de enfermos. 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.

## 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 los rotavirus están acoplados a partículas rojas de látex. Otros anticuerpos específicos contra el agente patógeno están unidos firmemente sobre la membrana. Primeramente se suspende la muestra de heces en el buffer de extracción y se deja sedimentar. Una parte alícuota del sobrenadante claro de la muestra se deposita sobre la tira, aquí se une con las partículas coloreadas de látex, y en caso positivo se acoplan al anticuerpo presente; atraviesa la membrana y se enlaza con la banda específica de captura.

#### 4. Contenido del envase

Los reactivos de un envase alcanzan para 20 determinaciones

Cassette	20 determ.	20 Casetes de prueba envasados individualmente
Diluent	26 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. Del mismo modo tampoco se puede garantizar la idoneidad de uso para casetes cuyo envase exterior individual haya sido dañado.

#### 6. Reactivos adicionales necesarios – accesorios requeridos

- Tubitos de muestras para las suspensiones de heces
- 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 los casetes de prueba deben ajustarse a temperatura ambiente (20 – 25 °C) antes de proceder a utilizarlos. Los casetes de prueba sólo deben extraerse del envase exterior poco antes de su uso. Los casetes 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.

### 9.3. Análisis de las muestras

El casete de prueba **Cassette** que se ha extraído del envase se coloca sobre una superficie plana. Acto seguido se toman del sobrenadante claro de la suspensión de heces 200 µl con la micropipeta o 4 gotas con la pipeta desechable **Pipet** y se transfieren al casete a través del orificio circular de entrada. Se debe cuidar que el líquido fluya sin impedimento a través de la membrana. Las partículas que eventualmente hayan sido pipeteadas y pudieran impedir esto, deben ser eliminadas previamente. Después de **5 minutos** se puede leer el resultado.

## 10. Control de calidad – Indicios de reactivos vencidos

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

- Durabilidad de los casetes 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 un nuevo casete 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, solamente deben aparecer dos bandas, vistas desde el punto de absorción de muestra y en el siguiente orden: Una banda roja de la reacción y una banda azul de control. **¡ Si no aparece la banda azul de control el test no es evaluable y por tanto inválido !**

Las siguientes interpretaciones son posibles:

- **Rotavirus positivo:** las bandas **roja** y **azul** son visibles.
- **Rotavirus negativo:** sólo la banda **azul** 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 detecta antígenos de Rotavirus 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 con Rotavirus. 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 el agente patógeno analizado se debe repetir el análisis con 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 mayor de la suspensión ya preparada (sobrenadante claro después de la sedimentación), para esclarecer si el agente patógeno buscado está realmente presente en la muestra y fue enmascarado 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.

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

**Sensibilidad:** 100 %  
**Especificidad:** 99 %  
**Valor predictivo positivo:** 99,1 %  
**Valor predictivo negativo:** 100 %

Además en un estudio retrospectivo se comparó el test rápido RIDA®QUICK Rotavirus con otro test rápido Combi comercial con respecto a los métodos PCR. Las muestras analizadas provenían de un estudio multicéntrico en niños menores de 4 años que estaban en tratamiento ambulatorio u hospitalizados por una sintomatología de gastroenteritis.

Los resultados se resumen en la Tabla 2.

		<b>RIDA®QUICK Rotavirus</b>		<b>Coris Bioconcept Rota-Stick</b>	
		<b>+</b>	<b>-</b>	<b>+</b>	<b>-</b>
<b>PCR</b>	<b>+</b>	<b>46</b>	<b>0</b>	<b>45</b>	<b>1</b>
	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>51</b>	<b>1</b>	<b>53</b>
<b>Sensibilidad</b>		<b>100 %</b>		<b>97,8 %</b>	
<b>Especificidad</b>		<b>94,4 %</b>		<b>98,1 %</b>	
<b>VPP</b>		<b>93,9 %</b>		<b>97,8 %</b>	
<b>VPN</b>		<b>100 %</b>		<b>98,1 %</b>	
<b>Precisión</b>		<b>97,0 %</b>		<b>98,0 %</b>	

## Bibliografia

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. Micro. 19, 888-892 (1984)