



# VITASSAY

## Rotavirus+Adenovirus+ Astrovirus

Test rápido de detección cualitativa simultánea de rotavirus, adenovirus y astrovirus en muestras de heces humanas

IU-7715012 Ed00 Diciembre 2016



Para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.

### USO PREVISTO

**Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus** es un test rápido, inmunocromatográfico, de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de rotavirus, adenovirus y astrovirus en muestras de heces humanas.

Ensayo sencillo, no invasivo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección causada por rotavirus, adenovirus y/o astrovirus.

### INTRODUCCIÓN

La gastroenteritis aguda es una causa importante de morbilidad y mortalidad en poblaciones pediátricas en todo el mundo. A nivel mundial, se estima 800000 niños y bebés mueren de diarrea cada año. La mortalidad no es frecuente en los países desarrollados, pero la diarrea suele asociarse con importantes costes médicos y de salud, y por lo tanto, tiene un alto impacto económico en la sociedad.

Los virus son los principales agentes etiológicos de la gastroenteritis aguda en niños <5 años de edad. El rotavirus del Grupo A, el norovirus, el adenovirus entérico, el astrovirus humano y el sapovirus son agentes etiológicos establecidos de la gastroenteritis aguda.

### PRINCIPIO

**Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus** es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de rotavirus, adenovirus y astrovirus en muestras de heces humanas

**Tira A:** En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a rotavirus.

**Tira B:** En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente adenovirus.

**Tira C:** En la zona de la línea del test de la membrana se han fijado unos anticuerpos monoclonales frente a astrovirus.

Durante el proceso, la muestra reacciona con los anticuerpos frente a rotavirus (tira A) y/o adenovirus (tira B), y/o astrovirus (tira C) formando conjugados. La mezcla se mueve hacia la parte de arriba de la membrana por acción capilar. Si la muestra es rotavirus positiva, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira A. Si la muestra es adenovirus positivo, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira B. Si la muestra es astrovirus positivo, los anticuerpos presentes en la membrana (línea de test) reaccionarán con la mezcla de conjugado y aparecerán una línea coloreada **roja** en la tira C. Aunque la muestra sea positiva o negativa, la mezcla continua moviéndose a través de la membrana y la línea **verde** de control siempre aparecerá (para todas las tiras).

La presencia de estas líneas **verdes** (en la zona de control (C)) de ambas tiras indica que el volumen añadido es suficiente, que el flujo ha sido el adecuado y también sirve como control interno de los reactivos.

### PRECAUCIONES

- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar el test si el envase primario se encuentra dañado.
- Las muestras deben considerarse potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Para evitar errores de contaminación, un nuevo test deberá utilizarse para la evaluación de cada muestra. Dispositivos de un solo uso.
- Los tests tras su utilización deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus**. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

### CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

El producto debe ser almacenado en el rango de temperatura ambiente o refrigerado (2-30°C/35.6-86°F) en su envase original sellado.

El producto es estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

No debe abrirse hasta el momento de su uso.  
No congelar.

## MATERIALES

MATERIAL SUMINISTRADO	MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADOS
<ul style="list-style-type: none"> <li>10 tests/kit <b>Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus.</b></li> <li>Instrucciones de uso.</li> <li>10 viales con diluyente para dilución de muestra.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Recipiente para recogida de muestras.</li> <li>Guantes desechables.</li> <li>Cronómetro.</li> <li>Espátula.</li> </ul>

## RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras deben ser almacenadas en un envase limpio y seco. La cantidad de heces tomada debe ser suficiente: 1-2g o 1-2mL si la muestra es líquida.

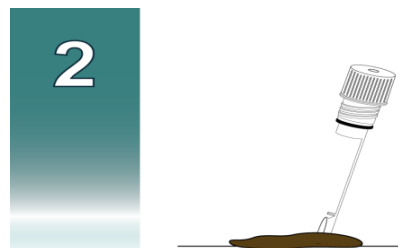
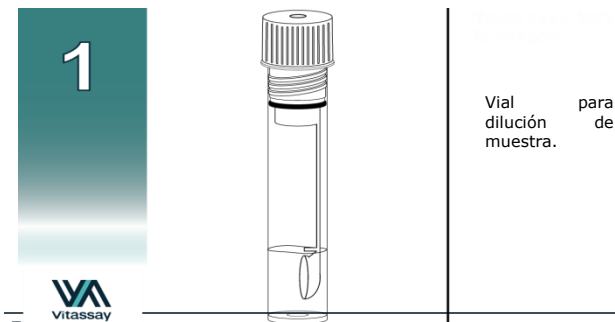
Las muestras pueden conservarse refrigeradas (2-8°C/35.6-46.4°F) durante 1-2 días antes de su uso. Si queremos conservar la muestra por un periodo prolongado, máximo 1 año, debe congelarse a -20°C/-4°F. En este caso, la muestra debe ser totalmente descongelada alcanzando la temperatura ambiente antes de usarse.

Homogeneizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

## PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

1. Abrir el tapón del vial con diluyente para dilución de muestra (figura 1) y usar la cuchara para tomar suficiente cantidad de muestra. Para muestras sólidas, insertar la cuchara en 4 puntos distintos de la muestra de heces (figura 2), quitar el exceso de muestra con la espátula (figura 3), y meter la muestra en el vial para dilución de muestra (figura 4). Para muestras líquidas tomar una cuchara llena de muestra (figura 3) e introducirla en el vial para dilución de muestra.

2. Cerrar el vial para dilución de muestra y agitar lo para diluir la muestra con el diluyente (figura 4).



Insertar la cuchara en 4 zonas distintas de la muestra.



Eliminar el exceso de muestra con la espátula. Muestras líquidas: cuchara llena.



Poner la muestra en el vial, cerrar el tapón y agitar.

## PROCEDIMIENTO

Antes de realizar la prueba los test, muestras, controles y diluyente deben alcanzar temperatura ambiente (15-30°C/59-86°F). No abrir el envase hasta el momento de la prueba.

1. Agitar el vial con la muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** de su envase antes de utilizarlo (figura 5).
3. Tomar el vial para dilución conteniendo la muestra diluida (figura 6), colocarlo dentro del tubo multiplex (figura 7).

Enrosocar el tapón del tubo multiplex (figura 8). La parte de abajo del vial para dilución de muestra se romperá y la solución diluyente+muestra alcanza la zona de muestra de las tiras (figura 9)

4. Dejar el tubo multiplex verticalmente en una superficie plana y leer el resultado a los **10 minutos**. No leer el resultado después de 10 minutos.

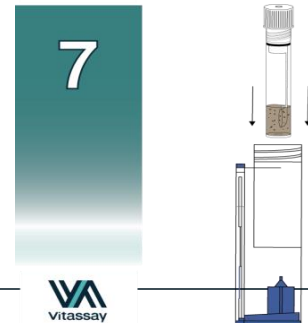
Si no se observa el avance de la cromatografía debido a la presencia de partículas sólidas (muestra no está homogeneizada), el proceso de migración puede detenerse en una o más tiras. En este caso, golpear la parte final del tubo multiplex en una superficie dura para permitir que la migración comience de nuevo.



Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus.



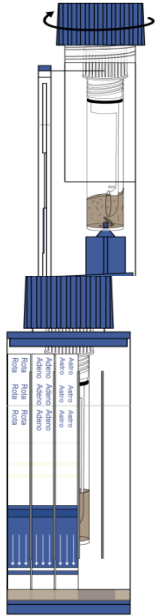
Vial con muestra diluida dentro.



Introduce el vial con la muestra diluida dentro del multiplex.

8

9



Cierra el tapón y la parte final del vial se romperá.

Se produce la reacción. Leer el resultado a los 10 minutos.



**INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Tira A: rotavirus, Tira B: adenovirus, Tira C: astrovirus

	<b>NEGATIVO</b>	No hay presencia de rotavirus, adenovirus y astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	Además de la línea verde (línea de control C), una línea roja aparece en cada tira, línea de test (T).

	<b>NEGATIVO</b>	Tira C (astrovirus) → línea verde	Hay presencia de rotavirus y adenovirus. Infección viral causada por rotavirus y astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	Tira A (rotavirus) → líneas verde/roja Tira B (adenovirus) → líneas verde/roja	
	<b>NEGATIVO</b>	Tira B (adenovirus) → línea verde	Hay presencia de rotavirus y astrovirus. Infección viral causada por rotavirus y astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	Tira A (rotavirus) → líneas verde/roja Tira C (astrovirus) → líneas verde/roja	
	<b>NEGATIVO</b>	Tira A (rotavirus) → línea verde	Hay presencia de adenovirus y astrovirus. Infección viral causada por adenovirus y astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	Tira B (adenovirus) → líneas verde/roja Tira C (astrovirus) → líneas verde/roja	
	<b>NEGATIVO</b>	Tira B (adenovirus) → línea verde	Hay presencia de rotavirus. Infección viral causada por rotavirus.
	<b>POSITIVO</b>	Tira A (rotavirus) → líneas verde/roja	
	<b>NEGATIVO</b>	Hay presencia de	Hay presencia de
	<b>POSITIVO</b>	Hay presencia de	

	Tira A (rotavirus) → línea verde Strip C (astrovirus) → línea verde	adenovirus. Infección viral causada por adenovirus.
	<b>POSITIVO</b>	
	<b>NEGATIVO</b>	Hay presencia de astrovirus. Infección viral causada por astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	
	<b>POSITIVO</b>	Hay presencia de astrovirus. Infección viral causada por astrovirus.
	<b>POSITIVO</b>	
Cualquier otro resultado	Resultado inválido en A, B o C, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.	

**Notas:** La intensidad de la línea roja de test en la región de la línea de resultados (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno en la muestra.

Los resultados positivos detallados en la tabla anterior deberían ser confirmados con procedimientos de diagnóstico adicionales.

Simple o doble infección virica simultánea es más frecuente que infección triple o cuadruple.

**Resultados inválidos:** Ausencia total de las líneas de control (verdes) indica un resultado inválido, independientemente de la aparición o no de las líneas de test (rojas). Procedimiento inadecuado, deterioro de reactivos, o volumen insuficiente de muestra podrían ser la causa del resultado inválido. Revisar el procedimiento y repetir el ensayo con un nuevo test. Si el problema continúa, dejar de utilizar el kit y contactar con su distribuidor.

**CONTROL DE CALIDAD**

Existe un control interno del procedimiento incluido en **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus**. Las líneas verdes aparecen en la ventana de resultados como control interno del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

**LIMITATIONS**

- No debe utilizarse **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** una vez abierto y transcurridas 2 horas.
- Un exceso de muestra puede dar resultados erróneos (aparición de líneas de color pardo). Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- Algunas muestras de heces pueden disminuir la intensidad de la línea de control.

- Después de una semana de infección la presencia de parásitos eliminados en heces disminuye considerablemente por lo que es probable una menor concentración en la muestra. Se debe tomar la muestra de heces dentro de la primera semana de aparición de los síntomas.
- No ha sido determinado el uso del test en muestras diferentes a las humanas.
- La calidad de **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** depende de la calidad de la muestra, por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras.
- Los resultados positivos determinan la presencia de rotavirus, adenovirus y/o astrovirus en muestras fecales. Un resultado positivo debería ser confirmado con otras técnicas de laboratorio adicionales. La confirmación de una infección debería solamente ser hecha por un médico tras la evaluación de todos los hallazgos clínicos y de laboratorio y deben estar basados en la correlación entre los resultados y más observaciones clínicas.
- Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, una determinación de rotavirus, adenovirus, astrovirus y/o astrovirus debería llevarse a cabo utilizando otras técnicas.

#### VALORES ESPERADOS

Según estimaciones recientes, casi 179 millones de enfermedades gastrointestinales ocurren cada año en los Estados Unidos, de los cuales 141.8 millones (aproximadamente el 80%) son causados por agentes no especificados y/o desconocidos.

La diarrea es responsable del 11% de las muertes entre niños menores de cinco años, y la gastroenteritis aguda es una de las principales causas de muerte en todo el mundo.

La incidencia de la diarrea es mayor en los países en desarrollo que en los países industrializados. El rotavirus es una de las principales causas de diarrea grave tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo. Estudios previos calculan que más de 100 millones de episodios de gastroenteritis requieren atención domiciliaria. Sin embargo, casi 25 millones de casos necesitan visita clínica, 2 millones de casos necesitan hospitalización y 440000 casos de muertes en niños menores de 5 años. La tasa de adenovirus entérico 40 y 41 varía de 1-8% en los países desarrollados a 2-31% en los países en desarrollo, pero la prevalencia se incrementa en pacientes inmunocomprometidos.

La tasa de prevalencia de la infección por astrovirus humano osciló entre 2% y el 9% entre los niños con diarrea, aunque también se han notificado incidencias superiores al 60%. La morbilidad varía dependiendo de la estación, con mayor infección durante el invierno en climas templados y la estación de lluvias en regiones tropicales.

#### CARACTERÍSTICAS DEL TEST

#### Sensibilidad y especificidad clínica-Rotavirus

Los resultados obtenidos con **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** fueron comparados con otro test comercial (Ridascreen®Rotavirus ELISA Test, r-Biopharm)

Los resultados se muestran a continuación:

	Ridascreen®Rotavirus ELISA Test			
	Positivo	Negativo	Total	
<b>Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus</b>	Positivo	18	1	19
	Negativo	0	43	43
	Total	18	44	62

<b>Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus (Rotavirus) vs Ridascreen®Rotavirus ELISA Test</b>			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>99%	98%	>94%	>99%

#### Sensibilidad y especificidad clínica-Adenovirus

La evaluación fue desarrollada usando **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** y PCR.

Los resultados se muestran a continuación:

	PCR			
	Positivo	Negativo	Total	
<b>Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus</b>	Positivo	7	0	7
	Negativo	0	52	52
	Total	7	52	59

<b>Vitassay Rotavirus + Adenovirus +Astrovirus (Adenovirus) vs PCR</b>			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VNP
>99%	>99%	>99%	>99%

#### Sensibilidad y especificidad clínica-Astrovirus

Se realizó una evaluación comparando los datos usando **Vitassay Rotavirus + Adenovirus + Astrovirus** y un ensayo ELISA (Ridascreen®Astrovirus Test, r-Biopharm).

	Ridascreen®Astrovirus Test			
	Positivo	Negativo	Total	
<b>Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus</b>	Positivo	16	0	16
	Negativo	1	11	12
	Total	17	11	28

<b>Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus (Astrovirus) vs Ridascreen®Astrovirus Test</b>			
Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
>99%	>99%	>99%	>99%

>99%	>99%	>99%	>99%
------	------	------	------

Los resultados mostraron que **Vitassay Rotavirus+Adenovirus+Astrovirus** presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar rotavirus, adenovirus y astrovirus.

#### Reacciones cruzadas

No se detectaron reacciones cruzadas con los siguientes patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

Adenovirus (Tira A y C)	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>Salmonella typhimurium</i>
Astrovirus (Tira A y B)	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Norovirus	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Rotavirus (Tira B y C)	<i>Shigella sonnei</i>
Enterovirus	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

#### BIBLIOGRAFÍA

1. PRRETI CHHABRA, DANIEL C. PAYNE; PETER G. SZILAGYI, KATHRYN M. EDWARDS; MARY ALLEN STAAT; S. HANNAH SHIRLEY; MARY WIKSWO; W. ALLAN NIX; XIAOYAN LU; UMESH D. PARASHAR; JAN VINJÉ. "Etiology of Viral Gastroenteritis in children <5 years of age in the United States, 2008-2009". Journal of Infectious Diseases July 9, 2013.
2. SONIA ETENNA LAKANA-DOUKI; CLAUDINE KOMBILA-KOUMAVOR; DIEUDONNÉ NKOGE; CHRISTIAN DROSTEN; JAN FELIX DREXLER; ERIC M. LEROY. "Molecular epidemiology of enteric viruses and genotyping of rotavirus A, adenovirus and astrovirus among children under 5 years old in Gabon". International Journal of Infectious Diseases 34 (2015) 90-95.
3. HERA NIRWATI; TRI WIBAWA; ABU THOLIB AMAN; ABDUL WAHAB; YATI SOENARTO. "Detection of group A rotavirus strains circulating among children with acute diarrhea in Indonesia". SpringerPlus (2016) 5:97.
4. ANAHITA SANAEI DASHTI; PEDRAM GHAREMANI; TAYEBEH HASHEMPOOR; ABDOLLAH KARIMI. "Molecular Epidemiology of Enteric Adenovirus Gastroenteritis in under-Five-Year-Old Children in Iran". Hindawi Publishing Corporation - Gastroenterology Research and Practice, Volume 2016, Article ID 2045697, 5 pages.
5. ABIR MONASTIRI; MAHJOUR AOUNI; SUSANA GUIX; BADEREDDINE MECHRI; MARC LOPEZ-ROIG; NABIL BEN SALEM ABID; NEJI GUEDDICHE; SABEUR HAMAMI; LAMJED BOUGHZALA; JORDI SERRA-COBO. "Clinical surveillance for human astrovirus in Monastir region, Tunisia".

**SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO**

<b>IVD</b>	Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Almacenar en lugar seco
	Consultar las instrucciones de uso		Limitación de temperatura
	Fecha de caducidad		Fabricante
<b>LOT</b>	Número de lote		Contiene <n> test
DIL	Diluyente de muestra	<b>REF</b>	Número de referencia