

Combi-Strip



www.corisbio.com

IFU-5704/ES/10

Test de diagnóstico rápido *in vitro* para la detección de Rotavirus y Adenovirus en muestras fecales humanas

USO *IN VITRO*

SOLAMENTE PARA USA PROFESIONAL

Referencia: C-1004, 25 tests por estuche

Fabricante:

Coris BioConcept
Science Park CREALYS
Rue Jean Sonet 4A
B – 5032 GEMBLoux
BELGIUM
Tel.: +32(0)81.719.917
Fax: +32(0)81.719.919
info@corisbio.com

Producido en BÉLGICA

ES

I. INTRODUCCIÓN

Las diarreas y las gastroenteritis humanas pueden estar provocadas por virus (Rotavirus, Adenovirus, Astrovirus, Calicivirus, etc.), por bacterias como las Salmonelas y los *E. coli* y por organismos protozoarios como los Cryptosporidium y los Giardia. El 45 % de las diarreas en niños con menos de 1 año y el 40 % de las diarreas en niños con menos de 4 años son de origen viral.

El Rotavirus es la primera causa de gastroenteritis en niños con menos de 5 años. La prevalencia del Adenovirus es del 4 al 12 %, lo que le coloca en la segunda causa de enteritis virales en niños con menos de 2 años.

El Rotavirus se transmite por contacto oral y fecal y, después de un periodo de incubación de más o menos 3 días, genera fiebres, vómitos y diarreas que pueden persistir hasta 10 días. Es responsable de 140 millones de casos de diarrea al año, con 870.000 muertes registradas en los países en vías de desarrollo (OMS 1997). Precisamente en los países del Tercer Mundo es la principal causa de mortalidad por deshidratación. Ahora bien, es una patología severa incluso en los países desarrollados, puesto que se estima que 75 a 125 niños mueren a causa de él cada año en los Estados Unidos. Su rapidez de contagio hace que se transmita con mucha rapidez en los grupos de riesgo formado por los niños.

La contaminación del Adenovirus sigue la vía oral y fecal, pero también puede producirse por inhalación. La incubación dura entre 5 y 8 días y los síntomas de inflamación del estómago y del intestino se traducen en diarrea, vómitos, fiebre y espasmos abdominales.

Los Adenovirus se dividen en 6 subgrupos repertoriados de A a F. El subgrupo F suele ser el causante de las gastroenteritis infantiles. El Combi-Strip detecta todos los virus de los grupos Rotavirus y Adenovirus.

II. PRINCIPIO DE LA PRUEBA

Esta prueba está lista para usar y se basa en una tecnología de membrana con nanopartículas de oro coloidal. Se sensibiliza una membrana de nitrocelulosa con anticuerpos frente a rotavirus y adenovirus (líneas de prueba). La especificidad se debe a dos anticuerpos monoclonales conjugados con partículas de oro y dirigidos o bien contra las proteínas VP6 del grupo A específicos del Rotavirus humano, o bien contra proteínas específicas del Adenovirus humano (Hexon antigen). Estos conjugados se insolubilizan en una membrana de poliéster.

Cuando se mete la varilla en la fase líquida de la suspensión de materias fecales, el conjugado solubilizado migra por difusión pasiva con la muestra y el conjunto se encuentra con un anticuerpo monoclonal dirigido contra proteínas específicas del Adenovirus. Si la muestra contiene Adenovirus, el complejo conjugado-Adenovirus se fija en el anticuerpo monoclonal absorbido en la nitrocelulosa y aparece una raya roja. La solución sigue la migración y se encuentra con el polisúero anti-Rotavirus absorbido en la nitrocelulosa. Si hay Rotavirus en la muestra, el complejo conjugado-Rotavirus se fija al nivel del polisúero anti-Rotavirus y aparece una raya roja.

La migración continúa y la solución se encuentra con un tercer reactivo (un anticuerpo policlonal anti-IgY de pollo) que fija el conjugado de control de migración, generando la raya roja de control que confirma el buen funcionamiento del test. El resultado puede verse a los 10 minutos.

III. REACTIVOS Y MATERIALES

1. Combi-Strip (25)

Estas varillas están metidas en un frasco o en un sobrecito con desecante.

2. Instrucciones de uso (1)

3. Tampón de dilución HC (15mL)

Solución salina tamponada a un pH 7.5 que contiene Tris, EDTA, NaN₃ (<0,1%), un detergente y proteínas de bloqueo.

4. Materiales requeridos :

- Tubos de ensayo de 3 mL o 5 mL;
- Material de toma de muestras.

Materiales que deben solicitarse por separado:

- Control positivo de Rotavirus (Ref.: C-1081)
- Control positivo de Adenovirus (Ref.: C-1082)
- Control negativo (Ref.: CTR-1000)

IV. PRECAUCIONES PARTICULARES

- Todas las operaciones vinculadas con el uso de la prueba deben realizarse de acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio (BPL).
- Todos los reactivos son solo para uso en el diagnóstico *in vitro*.
- Evite tocar con los dedos la nitrocelulosa.
- Al manipular las pruebas, utilice guantes.
- No utilice nunca los reactivos de otro kit.
- Este se debe volver a sellar tan pronto como se haya retirado la cantidad de tiras necesarias para la operación, ya que las tiras son sensible a la humedad. Asegúrese de que la bolsa de desecante está presente.
- Las líneas verdes indican los lugares de adsorción de los inmunorreactivos. El color verde desaparece durante la prueba.
- La calidad de los reactivos no se conservan en las condiciones requeridas, como se indica en el folleto.

Para evitar diluir el conjugado de oro coloidal en la solución, procure no sumergir la tira por encima de la línea indicada bajo las flechas impresas en el adhesivo.

V. ELIMINACIÓN DE RESIDUOS

- Deseche los guantes, hisopos, tubos de ensayo y accesorios utilizados de acuerdo con las BPL.
- Cada usuario es responsable de la gestión de los residuos producidos y debe asegurarse de que se eliminan de acuerdo con la legislación vigente.

VI. CONSERVACIÓN

- Un sobre sin abrir se puede mantener entre 4 y 30°C y utilizarlo durante el período de validez indicado en el envase. Una vez abierto el sobre, realice la prueba inmediatamente.
- Evite congelar los accesorios y el tampón.

VII. MANIPULACIÓN Y RECOGIDA DE MUESTRAS

Las muestras de heces deben procesarse lo más rápidamente posible después de recogerlas. Si es necesario, se pueden almacenar entre 2 y 8°C durante una semana o a -20°C durante períodos de tiempo más prolongados.

Asegúrese de que las muestras no se tartán con soluciones que contengan formaldehído o sus derivados.

VIII. PROCEDIMIENTO

PREPARATIVOS PARA LA PRUEBA:

Deje que los componentes del kit, dentro del envase sin abrir, y las muestras alcancen la temperatura ambiente (de 15 a 30°C) antes de realizar una prueba.

Una vez abierta, realice la prueba inmediatamente. Indique el nombre del paciente y el número de muestra en el tubo. Coloque los tubos de ensayo marcados en una gradilla.

PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA:

1. Añada 14 gotas de la solución del tampón de dilución en un tubo.
2. Sumerja un asa que contenga la muestra de heces en el tubo. **La relación de dilución debe ser del 4 % de p/v aproximadamente.** Para las muestras líquidas, coja 2 asas de 10 µL; para las muestras sólidas, coja 1 asa.
3. Deseche el asa de muestreo.
4. Agite el preparado para homogeneizarlo. Toda la muestra de heces debe diluirse en la solución.
5. Sumerja la tira sensible en la dirección indicada por la flecha roja.

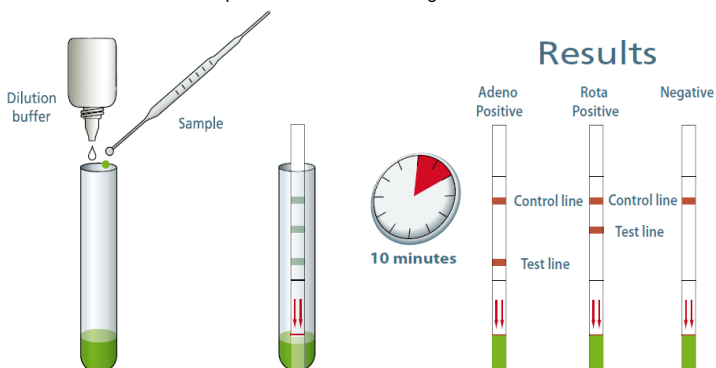
Deje que reaccione durante 10 minutos. Los resultados positivos se pueden comunicar en el momento en que resulten visibles las líneas de prueba y control.

No tenga en cuenta la aparición de nuevas líneas una vez sobrepasado el tiempo de reacción.

Los resultados se deben leer en tiras todavía húmedas.

IX. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados deben interpretarse de la manera siguiente:



Resultado negativo de la prueba: aparece una línea roja purpura en la posición de la línea de control (C) (línea superior). No aparece ninguna otra banda.

Resultado positivo de la prueba: además de una banda rojiza purpúrea en la línea de control (C), aparece una banda rojiza purpúrea visible en la posición de la línea de prueba de rotavirus (R) o en la línea de prueba de adenovirus (A). Aparecerán 3 líneas (C-R-A) en caso de infección por rotavirus y adenovirus. La intensidad de la línea de prueba puede variar en función de la cantidad de antígenos encontrados en la muestra. Cualquier línea de prueba (R o A) rojiza purpúrea, incluso débil, debe considerarse como un resultado positivo.

Resultado no válido de la prueba: La ausencia de una línea de control indica un fallo en el procedimiento de la prueba. Repita las pruebas no validas con un nuevo dispositivo de prueba.

Nota: durante el proceso de secado, puede aparecer una sombra muy ligera en la posición de la línea de prueba. No debe considerarse como un resultado positivo.

X. CONTROL DE CALIDAD

De acuerdo con las buenas prácticas de laboratorio, se recomienda comprobar periódicamente el rendimiento de las pruebas en función de los requisitos del laboratorio. Moje la tira en 500 µL de control preparado (consulte las instrucciones de uso de CTR-1000, C-1081 o C-1082).

XI. RESULTADOS

A. Limite de detección

Para el adenovirus, la sensibilidad analítica se determino con un antígeno de adenovirus 5 purificado y se evaluó a 3.9×10^8 vp/mL.

B. Sensibilidad - Especificidad (Correlación)

Se han realizado dos evaluaciones comparando los resultados obtenidos con un estuche Combi-Strip y los obtenidos con dos tests ELISA comercializados (para el Rotavirus y para el grupo Adenovirus).

La sensibilidad y la especificidad del estuche Combi-Strip han sido probadas en 214 y 130 muestras de heces. Se obtuvieron los resultados siguientes:

ELISA Rota	Positiva	Negativa	Total
Coris BioConcept			
Positiva	105	0	105
Negativa	1	108	109
Total	106	108	214

95 % Intervalo de confianza¹

Sensibilidad:	99.1 %	(94.1 - 100 %)
Especificidad:	100 %	(95.7 - 100 %)
Valor predictivo positivo:	100 %	(95.6 - 100 %)
Valor predictivo negativo:	99.1 %	(94.3 - 100 %)
Fiabilidad:	99.5 %	(213/214)

ELISA Adenovirus	Positiva	Negativa	Total
Coris BioConcept			
Positiva	12	0	12
Negativa	0	118	118
Total	12	118	130

95 % Intervalo de confianza

Sensibilidad:	100 %	(69.9 - 100 %)
Especificidad:	100 %	(96.1 - 100 %)
Valor predictivo positivo:	100 %	(69.9 - 100 %)
Valor predictivo negativo:	100 %	(96.1 - 100 %)
Fiabilidad:	100 %	(130/130)

C. Precisión

Todos los resultados observados se confirmaron según lo previsto. Las 15 pruebas llevadas a cabo en muestras de cultivos virales positivos para rotavirus y adenovirus fueron positivas, con la aparición de tres líneas de color. Las 15 pruebas realizadas en el tampón de dilución fueron negativas, con la aparición una línea de color (línea de control).

Para verificar la precisión entre los lotes, se analizó tres veces una muestra de cultivo viral positivo para rotavirus y adenovirus y un tampón de dilución en tres lotes diferentes del kit Combi. Todos los resultados mostraron las señales previstas. Los 3 lotes dieron resultados positivos para la muestra de cultivo viral positivo para rotavirus y adenovirus y resultados negativos para el tampón de dilución, en cada una de las pruebas.

D. Interferencia

Se analizo la reactividad cruzada de muestras positivas para los patógenos siguientes y se demostró que era negativa: *Giardia lamblia*, *Escherichia coli* 0157: H7, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* K99, Coronavirus, *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba dispar*, *Cryptosporidium parvum*.

XII. LÍMITES DEL KIT

Esta es una prueba cualitativa y no puede predecir la cantidad de antígenos presentes en la muestra. Debe tenerse en cuenta la presentación clínica y los resultados de otras pruebas para establecer un diagnóstico.

Una prueba positiva no descarta la posibilidad de que pueda haber otros patógenos presentes.

La prueba del kit es una prueba de detección en fase aguda. Las muestras recogidas tras esta fase pueden contener títulos de antígenos inferiores al umbral de sensibilidad del reactivo. Si una muestra presenta un resultado negativo a pesar de los síntomas observados, deberán realizarse otras pruebas relevantes para comprobar la muestra.

XIII. PROBLEMAS TÉCNICOS/RECLAMACIONES















Si surge un problema técnico o si los resultados no coinciden con los indicados en el prospecto de este envase:

1. Registre el número de lote del kit correspondiente
2. Si es posible, conserve la muestra problemática en el congelador mientras dure la gestión de la reclamación
3. Póngase en contacto con Coris BioConcept (client.care@corisbio.com) o con su distribuidor local

XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A. **Th. Leclipteux, D. Col, M. Venuti, F. Paulart, D. Van Beers, M. De Foor and R. Viehof;** *Comparison of immunochromatography with ELISA to detect Adenovirus in stools specimens; New Insights in gastrointestinal Diseases*, London, UK, May, 1998
- B. **R. Viehoff, D. Van Beers, M. De Foors, D. Col, M. Venuti, F. Paulart and Th. Leclipteux;** *Set up of a rapid immunochromatographic diagnostic test for Adenovirus detection;* European Society for Clinical Virology IV, Hamburg, Germany, August, 1998
- C. **Sneyers et al.;** *Detection of rotavirus in faecal specimens with a monoclonal antibody enzyme-linked immunosorbent assay: comparison with polyclonal antibody enzyme-immunoassay and a latex agglutination test;* Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis., Vol 12, N° 4, pp 95-104, 1989
- D. **E. Thomas et al.;** *Evaluation of Seven Immunoassays for Detection of Rotavirus in Pediatric Stool Samples;* J. Clin. Microbiol. 1988; 26 (6): 1189-1193
- E. **Molyneux et al.;** *Comparison of Six Commercial Kits for the Diagnosis of Rotavirus Infection in Man and Claves;* Serodiagn. and Immunother in Inf. Dis. 1989; 3: 123-134
- F. **H. Dennehy, D.R. Gauntlett and W. E. Tente;** *Comparison of Nine Commercial Immunoassays for the Detection of Rotavirus in Fecal Specimens;* J. Clin. Microbiol. 1988; 26 (9): 1630-1634 -6.E. & C. Kurstak
- G. **Van Beers, M. De Foor, R. Viehoff, D. Col, M. Venuti and T. Leclipteux;** *Set-up of a new rapid immunochromatographic diagnostic test for Rotavirus detection;* Congress in Clinical Virology, Bologna, Settembre 1997, pag. 79

Última actualización: MARCHA 2014

	REF	Catalogue number		Manufactured by
	IVD	In vitro diagnostic medical device		Temperature limitation
	Σ	Contains sufficient for <n> tests		DIL SPE Diluent specimen
		Consult instructions for use		Do not reuse
		Keep dry		Use by
	DIL AS	Diluent assay		CONT Na ₃ azide Contains Sodium azide

¹ Newcombe, Robert G. "Two-Sided Confidence Intervals for the Single Proportion: Comparison of Seven Methods," *Statistics in Medicine*, 17, 857-872 (1998).