

## RIDASCREEN® Rotavirus

**REF** C0901



## 1. Uso previsto

Para uso no diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® Rotavirus é um ensaio imunoenzimático para a identificação qualitativa do rotavírus em amostras de fezes humanas.

## 2. Sumário e explicação do teste

Os rotavírus são os principais patógenos envolvidos na gastroenterite não bacteriana entre crianças na faixa etária de 6 meses a 3 anos. Eles também podem ser identificados como a causa da doença em crianças maiores e adultos. Nos grupos de risco – crianças, idosos e doentes imunodeprimidos – estas infecções podem ser fatais.

As infecções por rotavírus ocorrem principalmente nos meses de inverno. Foram descritas endemias e epidemias com milhares de pacientes também. Em crianças hospitalizadas com enterite aguda, até 50% das amostras examinadas apresentam resultados positivos de rotavírus. Os rotavírus são transferidos por via fecal-oral e são excretados pelos intestinos em grandes quantidades, por isso, infecções por rotavírus nosocomiais são muito temidas em unidades de cuidados neonatais e clínicas pediátricas, e são difíceis de serem gerenciadas. Isto significa que é muito importante um método rápido e confiável de identificação do rotavírus, a fim de evitar uma nova infecção.

Não foi possível detectar o rotavírus até que as amostras de fezes e material de biópsia do intestino pudessem ser examinadas por microscopia eletrônica - hoje este é o método padrão de identificação. Outro desenvolvimento é a identificação em culturas de células *in vitro*. Como isso é difícil e demorado, no entanto, ela não é utilizada rotineiramente para identificar os rotavírus. Os testes sorológicos apenas ajudam a confirmar o diagnóstico de enterite por rotavírus, porque os anticorpos IgM não são detectáveis antes do 5º dia após o início da doença. O diagnóstico precoce é descartado com esse método.

O teste RIDASCREEN® Rotavirus é um método de imunensaio enzimático simples e altamente sensível, o que possibilita a identificação precoce e confiável de rotavírus antígenos. Amostras maiores também podem ser processadas em períodos mais curtos de tempo.

## 3. Princípio do teste

O teste RIDASCREEN® Rotavirus emprega anticorpos monoclonais em um método do tipo sanduíche. Um anticorpo monoclonal para o produto do 6º gene viral (VP6) é revestido à superfície do poço da placa de micropoços. Este é um antígeno específico de grupo que se encontra em todos os *rotavírus* que causam doenças em humanos. Usa-se uma pipeta para posicionar uma suspensão da amostra de fezes para ser examinada, bem como as amostras de controle no poço da placa de micropoços, juntamente com anticorpos monoclonais anti-rotavírus biotinados

(Conjugado 1) para incubação à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Depois de uma etapa de lavagem, o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase (Conjugado 2) é adicionado e incubado novamente à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Com a presença de rotavírus na amostra de fezes, um complexo de sanduíche formará o que consiste em anticorpos imobilizados, os antígenos de rotavírus, e os anticorpos conjugados com o complexo biotina-estreptavidina-peroxidase. Outra etapa de lavagem remove o conjugado de estreptavidina poli-peroxidase não ligado. Em amostras positivas, a adição de um substrato muda a enzima ligada, de uma solução incolor para uma solução azul. A adição de um reagente de parada muda a cor de azul para amarelo. A extinção é proporcional à concentração de antígenos de rotavírus encontrados na amostra.

#### 4. Reagentes fornecidos

Os reagentes do kit são suficientes para 96 determinações.

Plate	96	Placa de micropoços, 12 tiras de micropoços (que podem ser divididas) no suporte para tiras; revestida com anticorpos monoclonais (rato) para anti-rotavírus.
Diluent   1	100 ml	Tampão de diluição de amostra, solução de NaCl tamponada com proteína; pronto para usar, cor azul
Wash buffer	100 ml	Tampão de lavagem, solução de NaCl tamponada com fosfato (concentrada 10 vezes); contém 0,1% de timerosal
Control   +	2 ml	Controle positivo; cultura de rotavírus inativada; pronto para usar
Control   -	2 ml	Controle negativo (tampão de diluição da amostra), pronto para usar
Conjugate   1	13 ml	Anticorpos monoclonais para rotavírus conjugados à biotina (rato) em uma ção de proteína estabilizada; pronto para usar, cor vermelha
Conjugate   2	13 ml	Conjugado de estreptavidina poli-peroxidase em solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor laranja
Substrate	13 ml	Peróxido de hidrogênio/TMB; pronto para usar
Stop	12 ml	Reagente de parada; 1 N de ácido sulfúrico; pronto para usar

As substâncias perigosas são indicadas de acordo com as obrigações de marcação. Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS) em [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Instruções de armazenamento

Todos os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C e podem ser usados até a data impressa na etiqueta. Desde que o tampão de lavagem diluído seja armazenado a 2 - 8 °C, ele pode ser usado por, no máximo 4 semanas. Deve-se evitar a contaminação microbiana. Após a data de expiração, a garantia da qualidade já não é válida.

A bolsa de alumínio deve ser aberta com tesoura de forma que a vedação de grampo não seja rasgada. As tiras de micropoços que não forem necessárias devem ser recolocadas em uma bolsa de alumínio imediatamente e armazenadas a 2 - 8 °C.

O substrato incolor também deve ser protegido contra a luz solar direta, para impedir que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Depois que o substrato fica azul, ele não pode mais ser utilizado.

## 6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

### 6.1 Reagentes necessários

Os seguintes reagentes são necessários para realizar o RIDASCREEN® Rotavirus Test:

Reagentes
Água destilada ou deionizada

## 6.2 Equipamento laboratorial necessário

O seguinte equipamento é necessário para realizar o RIDASCREEN® Rotavirus Test:

Equipamentos
Tubos de ensaio
Pipetas descartáveis (Artigo no: Z0001)
Misturador de vórtice (opcional, consulte 9.3.)
Micropipeta para volumes de 50 - 100 µl e 1 ml
Cilindro de medição (1.000 ml)
Cronômetro
Dispositivo de lavagem para placas de micropoços ou pipetas multicanal (300 µl)
Fotômetro para placas de micropoços (450 nm e filtro de referência de 620 – 650 nm)
Papel filtro (toalhas para laboratório)

## 7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Somente para uso no diagnóstico *in vitro*.

Este ensaio só deve ser realizado por profissionais de laboratório treinados. As diretrizes para trabalhar em laboratórios médicos devem ser seguidas. Sempre siga rigorosamente as instruções para os usuários referentes a este teste.

As amostras ou reagentes não devem ser pipetados com a boca, e o contato com a pele ferida ou com membranas mucosas deve ser evitado. Use equipamento de proteção pessoal (luvas adequadas, avental, óculos de segurança) ao manusear as amostras e lave as mãos depois de concluir o teste. Não fume, coma ou beba nas áreas onde amostras ou reagentes estão sendo processados.

Para ver mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança de Materiais (MSDS) em [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

O kit inclui um controle positivo que contém uma cultura de rotavírus inativada. Esta cultura deve ser tratada como material potencialmente infeccioso e manuseada de acordo com os regulamentos de segurança nacionais, assim como as amostras do paciente.

O tampão de lavagem contém 0,1% de timerosal como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou membranas mucosas.

Garanta o descarte adequado e responsável de todos os reagentes e materiais após o uso. Para o descarte, siga os regulamentos nacionais.

## 8. Coleta e armazenamento de espécimes

As amostras de fezes devem ser tomadas assim que possível, mas dentro de três dias após a ocorrência dos sintomas iniciais de diarreia. Até o momento da utilização, armazene o material de teste a 2 - 8 °C. Se não for possível usar o material para um teste dentro de três dias, recomendamos a armazenagem a -20 °C ou menos. Evite congelar e descongelar a amostra repetidamente. Depois de diluir uma amostra de fezes no tampão de diluição de amostra 1:11, ela pode ser armazenada a 2 - 8 °C para uso dentro de três dias (Tabela 1).

**Tab. 1: Armazenagem de espécimes**

Amostra de fezes não diluídas		Amostra de fezes diluídas
2 - 8 °C	≤ - 20 °C	2 - 8 °C
≤ 3 dias	> 3 dias	≤ 3 dias

As amostras de fezes e esfregaços fecais não devem ser coletadas em contêineres de transporte contendo meios conservantes, soros animais, íons metálicos, agentes oxidantes ou detergentes, já que podem interferir no teste RIDASCREEN® Rotavirus.

Se esfregaços retais forem utilizados, certifique-se de que o volume de material fecal seja suficiente (aprox. 100 mg) para o teste.

O rastreamento do contato deve incluir o teste de amostras de fezes de pessoas de contato que não apresentam sintomas clínicos, para identificar portadores assintomáticos.

## 9. Realização do teste

### 9.1 Informações gerais

Todos os reagentes e o micropoço **Plate** devem atingir a temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes do uso. As tiras de micropoços não devem ser removidas da bolsa de alumínio até atingir a temperatura ambiente. Os reagentes devem ser misturados totalmente imediatamente antes do uso. Depois do uso, as tiras de micropoços (colocadas em bolsas vedadas) e os reagentes devem ser armazenados a 2 - 8 °C. Depois de usadas, as tiras de micropoços não podem ser usadas novamente. Os reagentes e as tiras de micropoços não devem ser usados se a embalagem estiver danificada ou os frascos estiverem vazando.

Para evitar a contaminação cruzada, deve-se impedir que as amostras entrem em contato com os componentes do kit.

O teste não deve ser realizado sob luz solar direta. Recomendamos a cobertura da tira de micropoços ou o envolvimento em plástico para evitar perdas por evaporação.

## 9.2 Preparação do tampão de lavagem

Misture 1 parte de concentrado de tampão de lavagem **Wash buffer** com 9 partes de água destilada. Quaisquer cristais presentes no concentrado deverão ser dissolvidos previamente aquecendo em banho-maria a 37 °C.

## 9.3 Preparação das amostras

Encha um tubo de ensaio com 1 ml de **Diluent | 1** tampão de diluição da amostra RIDASCREEN®. Use uma pipeta descartável (artigo no Z0001) para sugar uma amostra fina de fezes (aprox. 100 µl) até um ponto logo acima da segunda marcação e adicione ao tampão no tubo de ensaio para fazer uma suspensão. Para fazer uma suspensão com uma amostra de fezes sólidas, adicione uma quantidade equivalente (aprox. 50 - 100 mg) com uma espátula ou ansa de inoculação descartável. Homogeneíze a suspensão de fezes por sucção e ejeção com uma pipeta ou, como alternativa, misture com um misturador Vortex. Deixe a suspensão descansar por um breve período (10 minutos) para que as partículas grossas de fezes assentem, e esse sobrenadante clarificado da suspensão de fezes pode ser usado diretamente no teste. Caso o procedimento do teste seja realizado em um sistema ELISA automatizado, o sobrenadante deve obrigatoriamente estar livre de partículas. Nesse caso, é recomendável centrifugar a amostra a 2.500 G durante 5 minutos.

**Obs.: Amostras de fezes diluídas em **Diluent | 1** podem ser testadas em todos os RIDASCREEN® ELISA para os quais o **Diluent | 1** é utilizado.**

## 9.4 Primeira incubação

Depois de inserir um número suficiente de poços no suporte para tiras, use uma pipeta para adicionar 100 µl do positivo **Control | +**, do negativo **Control | -**, ou da suspensão da amostra das fezes aos poços. Em seguida, adicione 100 µl do anticorpo conjugado à biotina **Conjugate | 1** e misture (batendo levemente no lado da placa); depois, incube por 60 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

## 9.5 Lavagem

Lavar cuidadosamente é importante para a obtenção de resultados corretos. Portanto, siga rigorosamente as instruções. A substância incubada nos poços deve ser esvaziada em um contêiner de resíduos para o descarte de acordo com os regulamentos locais. Depois disso, deite a placa em um papel absorvente para remover a umidade residual. Em seguida, lave a placa cinco vezes usando 300 µl de tampão de lavagem **Wash buffer** em cada vez. Certifique-se de que os poços sejam totalmente esvaziados, deitando-os, após cada lavagem, em uma parte do papel absorvente que ainda esteja seca e não tenha sido usada.

Se você usa uma lavadora de microplacas ou um ELISA totalmente automatizado, certifique-se de que a máquina esteja ajustada corretamente; se necessário, solicite os ajustes do fabricante. Os aparelhos que a R-Biopharm fornece já estão programados com ajustes e protocolos de controle validados. Para evitar o

entupimento das agulhas de lavagem, entregue somente suspensões de fezes livres de partícula (consulte o Item 9.3., Preparação das amostras). Além disso, certifique-se de que todo o líquido seja aspirado durante cada etapa de lavagem.

### 9.6 Segunda incubação

Use uma pipeta para colocar 100 µl de conjugado de estreptavidina poli-peroxidase **Conjugate 12** nos poços e, em seguida, incube durante 30 minutos à temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### 9.7 Lavagem

Lave conforme o descrito no Item 9.5.

### 9.8 Terceira incubação

Encha todos os poços com 100 µl de substrato **Substrate**. Incube a placa por 15 minutos no escuro à temperatura ambiente (20 - 25 °C). Em seguida, coloque 50 µl de reagente de parada em todos os poços **Stop** a fim de parar a reação. Depois de misturar cuidadosamente ao bater ligeiramente no lado da placa, meça a extinção a 450 nm (opcional: 450/620 nm). Ajuste o ponto zero no ar, ou seja, sem a placa de micropoços.

**Obs.: Amostras altamente positivas de pacientes podem provocar precipitados de cor preta do substrato.**

## 10. Controle de qualidade - indicação de instabilidade ou deterioração dos reagentes

Para fins de controle de qualidade, controles positivos e negativos devem ser usados cada vez que o teste é realizado, para garantir que os reagentes estejam estáveis e que o teste seja realizado corretamente. O teste foi realizado corretamente se a taxa de extinção (O. D.) do controle negativo é inferior a 0,2 a 450 nm (inferior a 0,160 a 450/620 nm) e o valor medido para o controle positivo é maior que 0,8 a 450 nm ou a 450/620 nm. Um valor superior a 0,2 (0,160) para o controle negativo pode indicar que a lavagem foi insuficiente. O desvio dos valores exigidos, bem como uma coloração turva ou azul do substrato incolor antes de ter sido colocado nos poços, pode indicar que os reagentes expiraram.

Se os valores estipulados não forem obtidos, verifique os pontos a seguir antes de repetir o teste:

- Data de expiração dos reagentes usados
- Funcionalidade do equipamento que está sendo usado (por exemplo: calibragem)
- Procedimento de teste correto
- Inspeção visual dos componentes do kit à procura de contaminação ou vazamentos
- a solução de substrato que se torna azulada não deve ser usada.

Se mesmo assim as condições não forem preenchidas após a repetição do teste, consulte o fabricante ou o distribuidor local da R-Biopharm.

## **11. Avaliação e interpretação**

### **11.1. Cálculo do limite**

Para estabelecer o corte, 0,15 unidade de extinção é adicionada à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Corte} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,15$$

### **11.2. Resultados do teste**

A avaliação da amostra é positiva se a taxa de extinção é mais do que 10 % superior ao valor de corte calculado.

A avaliação da amostra é marginal se a taxa de extinção varia entre 10 % menor e 10% maior que o valor de corte. Se a repetição do exame com uma nova amostra de fezes fica novamente na zona cinza, a avaliação da amostra é negativa.

Amostras com extinções mais de 10 % abaixo do corte calculado devem ser consideradas negativas.

## **12. Limitações do método**

O teste RIDASCREEN<sup>®</sup> Rotavirus identifica antígenos do rotavírus em amostras de fezes. Não é possível associar o nível determinado de extinção à ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos. Os resultados obtidos sempre devem ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.

Um resultado positivo não descarta a presença de outros patógenos infecciosos.

Um resultado negativo não descarta a possibilidade de infecção por rotavírus. Um resultado desse tipo pode ocorrer devido à excreção intermitente do vírus ou à quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se o histórico do paciente respalda a suspeita de infecção por rotavírus, deve-se repetir o exame com outra amostra de fezes.

Um resultado marginal pode ser causado pela distribuição não homogênea de vírus na amostra de fezes. Nesse caso, o exame deve ser repetido com uma segunda suspensão da mesma amostra ou outra amostra de fezes deve ser solicitada.

## 13. Características de desempenho

### 13.1 Qualidade do teste

O RIDASCREEN® Rotavirus foi validado por comparação com três ELISAs de rotavírus comercialmente disponíveis. A amostra colhida que foi utilizada consistiu em amostras frescas e do mesmo dia obtidas em um laboratório de rotina e de amostras preparadas que estavam congeladas a -20 °C para uso no estudo de comparação. Uma suspensão de linha de base homogênea foi testada por cada um dos ELISAs de acordo com as instruções dos fabricantes. A amostra era considerada positiva ou negativa, se os resultados de dois dos três testes de referência estivessem de acordo. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 2.

**Tabela 2: Correlação entre o RIDASCREEN® Rotavirus ELISA e outros três ELISAs comerciais**

RIDASCREEN® Rotavirus	Concorrente ELISA		Total
	+	-	
+	22	1*	23
-	1*	112	113
Total	23	113	136

\* Ambas as amostras foram negativas no Teste PCR de Rotavírus.

Sensibilidade : 95,7 %

Especificidade : 99,1 %

### 13.2 Reatividade cruzada

Diversos micro-organismos patogênicos do trato intestinal foram examinados com o RIDASCREEN® Rotavírus ELISA e não apresentaram reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões bacterianas que comprovadamente tinham concentrações de 10<sup>6</sup> a 10<sup>9</sup> organismos por ml. Os sobrenadantes de cultura de vírus e toxinas, bem como amostras de fezes são enumerados em conformidade. Os resultados desse estudo são resumidos na Tabela 3.

**Tabela 3:** Reatividade cruzada com micro-organismos patogênicos

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

<i>Streptococcus uberis</i>	Cultura	DSM 20569	0,072
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Cultura	LMU Munich	0,097
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Cultura	LMU Munich	0,074
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Cultura	LMU Munich	0,084
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Cultura	LMU Munich	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Cultura	LMU Munich	0,086
<i>Candida albicans</i>	Cultura	ATCC 10231	0,082
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	DSM 9898	0,065
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	DSM 4688	0,054
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	DSM 4689	0,073
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultura	DSM 5361	0,064
<i>Helicobacter pylori</i>	Cultura	DSM 4867	0,053
<i>Morganella morganii</i>	Cultura	DSM 6675	0,053
<i>Astrovirus</i>	Sobrenadante da cultura	Micromun	0,055
<i>Astrovirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,080
<i>Adenovirus</i>	Sobrenadante da cultura	Micromun	0,065
<i>Adenovirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,061
<i>H. pylori</i>	Inativada H. pylori lysate	Controle de kit RIDASCREEN® H. pylori FemtoLab	0,082
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toxoide	Controle de kit C. perfringens enterotoxina 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>	Cultura	tgcBiomics	0,060
<i>C. difficile</i>	Cultura	VPI 1640	0,060
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	Waterborne Inc.	0,052
<i>Campylobacter</i>	Fezes	Exame de rotina	0,042
<i>Giardia lamblia</i>	Fezes	TI Berlin	0,037
<i>Entamoeba histolytica</i>	Fezes	TI Berlin	0,049
<i>Salmonella enteritidis</i>	Fezes	Exame de rotina	0,066
<i>Sapovirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,062

### 13.3 Precisão

A reprodutibilidade do RIDASCREEN® Rotavirus ELISA foi testada com seis referências que representam toda a gama de medição, de fraco ao altamente positivo.

Para determinar a reprodutibilidade intraensaio, 40 réplicas dessas referências foram testadas. O kit 1 foi testado com um padrão de referência 1 (RS 1), e os kits 2 e 3 foram testados com o padrão de referência 2 (RS 2). Os valores médios e os coeficientes de variação (VC) foram determinados para os três lotes.

Para a reprodutibilidade entre ensaios, foram testadas referências de dez dias úteis diferentes em duplicadas, com duas execuções por dia. As medições foram determinadas em três lotes por três técnicos.

A reprodutibilidade entre os lotes foi determinada para dois lotes (lotes 2 e 3). Os resultados desse estudo são mostrados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Reprodutibilidade e precisão do RIDASCREEN® Rotavirus ELISA

Referências Valor médio / VC		Intraensaio			Entre ensaios			Entre lotes
		Lote de kits 1 (RS 1)	Lote de kits 2 (RS 2)	Lote de kits 3 (RS 2)	Lote de kits 1 (RS 1)	Lote de kits 2 (RS 2)	Lote de kits 3 (RS 2)	Kit Lote 2-3
1	MV	2,279	2,116	2,300	2,206	1,902	2,035	1,968
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	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
	VC (%)	9,85 %	15,38 %	7,43 %	17,94 %	28,90 %	27,73 %	28,87 %

### 13.4 Sensibilidade analítica

O limite de detecção do RIDASCREEN® Rotavirus ELISA foi determinado com uma diluição em série de uma amostra de fezes quantificada por microscopia imunoeletrônica (MIE). As medições foram realizadas em triplicado, com base em um título de vírus de  $10,6 \times 10^7$  partículas/ml. O limite de detecção foi definido como

$6,63 \times 10^3$  partículas de vírus/ml da amostra de fezes. Os resultados da série de titulação são mostrados na Tabela 5. Observe que o valor de O.D. positivo no ELISA é causado por partículas de vírus intactas, mas também por fragmentos do vírus que não são contados no MIE.

**Tabela 5:** Determinação da sensibilidade analítica do RIDASCREEN® Rotavirus ELISA

MIE	RIDASCREEN® Rotavirus	
	Partículas de vírus / ml	Valor médio [OD 450]
$5,3 \times 10^6$	4,036	Positivo
$5,3 \times 10^5$	4,043	Positivo
$2,65 \times 10^5$	4,051	Positivo
$1,325 \times 10^5$	4,060	Positivo
$0,663 \times 10^5$	3,140	Positivo
$5,3 \times 10^4$	2,022	Positivo
$2,65 \times 10^4$	0,788	Positivo
$1,325 \times 10^4$	0,451	Positivo
$0,663 \times 10^4$	0,240	Positivo
$0,332 \times 10^4$	0,124	Negativo
$0,165 \times 10^4$	0,049	Negativo

### 13.5 Substâncias interferentes

As substâncias da lista a seguir não apresentaram efeitos sobre os resultados do teste quando misturadas às amostras de fezes positivas e negativas do rotavírus nas concentrações descritas:

Mucinas	5,0 % p/p	Diclofenaco	0,00263 % v/p
Sangue humano	5,0 % v/p	Cyclamato	5,0 % v/p
Sulfato de bário	5,0 % p/p	Combinação de ácido esteárico e ácido palmítico	40 % p/p (mistura 1:1)
Loperamida	5,0 % p/p		
Pepto-Bismol	5,0 % v/p	Metronidazol solução de 0,5 %	5,0 % v/p

## 14. Histórico de versões

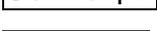
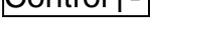
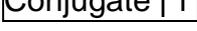
Número da versão	Capítulo e designação
2017-04-20	Versão anterior
2019-07-08	Revisão geral 4. Reagentes fornecidos 8. Coleta e armazenamento de espécimes 9.2 Preparação do tampão de lavagem 9.5 Lavagem

## 15. Explicação dos símbolos

### Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico in vitro
	Respeitar as instruções de utilização
	Número do lote:
	Validade
	Armazenar em
	Número do artigo
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

### Símbolos específicos de teste

	Placa de micropoços
	Tampão de diluição da amostra
	Tampão de lavagem
	Controle positivo
	Controle negativo
	Conjugado 1
	Conjugado 2
	Substrato
	Reagente de parada

## 16. Referências

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