

RIDASCREEN® Adenovirus

REF C1001



1. Uso previsto

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

2. Sumário e explicação do teste

Os Adenovirus podem ser reconhecidos pela sua forma tipicamente icosaédrica com estruturas pontiagudas sobre a superfície. Mais de 50 tipos diferentes de Adenovirus são conhecidos e podem causar infecções dos olhos, do trato respiratório ou do trato intestinal. As infecções do trato intestinal são causadas pelos tipos 40 e 41, em particular. A enterite também pode ocorrer como um sintoma concomitante de infecções causadas por outros tipos de vírus. Com relação à diarreia viral em crianças, o Adenovirus e Astrovírus ocupam a mesma posição como as causas mais frequentes após o rotavírus. Os adultos também podem ficar doentes com este tipo de infecção. Como a gastroenterite causada por um Adenovirus não pode ser diferenciada clinicamente da infecção por um rotavírus ou um astrovírus, os pacientes devem sempre ser testados quanto aos três patógenos. Os anticorpos monoclonais usados no RIDASCREEN® Adenovirus são reativos para a proteína hexon específica do Adenovirus, e a gama inclui os tipos entéricos 40 e 41, assim como a maioria dos outros tipos de vírus que provocam infecções oculares e infecções do trato respiratório.

3. Princípio do teste

O teste de RIDASCREEN® Adenovirus emprega anticorpos monoclonais em um método do tipo sanduíche. Um anticorpo monoclonal para o antígeno do hexon do Adenovirus é revestido à superfície do poço da placa de micropoços. 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 contra Adenovirus monoclonais (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 Adenovirus em uma amostra de fezes, um complexo de sanduíche formará o que consiste em anticorpos imobilizados, os antígenos de Adenovirus, 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 Adenovirus encontrados na amostra.

4. Reagentes fornecidos

Os reagentes no 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-Adenovirus
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 Adenovirus inativada; pronto para usar
Control -	2 ml	Controle negativo (tampão de diluição da amostra); pronto para usar
Conjugate 1	13 ml	Anticorpos monoclonais para anti-Adenovirus conjugados à biotina (rato) em uma solução de proteína estabilizada; pronto para usar; cor verde
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.

5. Instruções de armazenamento

Todos os reagentes devem ser armazenados entre 2 e 8 °C e podem ser usados até a data impressa no rótulo. Se o tampão de lavagem diluído for armazenado entre 2 e 8 °C, ele pode ser usado por, no máximo, 4 semanas. A contaminação microbiana deve ser evitada. A garantia de qualidade expirará após o término do prazo de validade.

A embalagem de alumínio deve ser aberta com tesoura, de modo que o fecho de encaixe não seja separado. As tiras de microtitulação que não forem necessárias

devem ser devolvidas imediatamente à embalagem de alumínio e armazenadas à temperatura entre 2 e 8 °C.

O substrato incolor deve também ser protegido da luz direta, para evitar que se decomponha ou fique azul devido à auto-oxidação. Se o substrato ficar azul, ele não deve ser utilizado.

6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

6.1 Reagentes necessários

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

Reagentes
Água destilada ou deionizada

6.2 Equipamento laboratorial necessário

O seguinte equipamento é necessário para realizar o RIDASCREEN® Adenovirus 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.

O kit inclui um controle positivo que contém uma cultura de Adenovirus 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 sete dias (Tabela 1).

Tabela 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	≤ 7 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 de RIDASCREEN[®] Adenovirus.

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

O rastreio do contato deve incluir amostras de fezes tomadas 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 novamente 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 etiquetado 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® ELISAs para o qual **Diluent | 1** é utilizado.**

9.4 Primeira incubação

Depois de inserir um número suficiente de poços no suporte de 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 2** 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 os 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 limite, unidades de extinção de 0,150 são adicionadas à extinção medida para o controle negativo.

$$\text{Limite} = \text{extinção para o controle negativo} + 0,150$$

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

Teste RIDASCREEN® Adenovirus identifica antígenos do Adenovirus 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 Adenovirus. 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 Adenovirus, 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® Adenovirus foi validado por comparação com três ELISAs de Adenovirus 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® Adenovirus ELISA e outros três ELISAs comerciais

RIDASCREEN® Adenovirus	Concorrente ELISA		Total
	+	-	
+	21	0	21
-	0	115	115
Total	21	115	136

Sensibilidade : >99,9 % Especificidade : >99,9 %

13.2 Reatividade cruzada

Diversos micro-organismos patogênicos do trato intestinal foram examinados com o ELISA RIDASCREEN® Adenovirus ELISA e não apresentaram reatividade cruzada. Esses estudos foram realizados com suspensões bacterianas que comprovadamente tinham concentrações de 10^6 a 10^9 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 Iwoffii</i>	Cultura	DSM 2403	0,063
<i>Aeromonas hydrophila anaerogenes</i>	Cultura	DSM 30020	0,091
<i>Aeromonas hydrophila hydrophila</i>	Cultura	DSM 30016	0,074
<i>Astrovirus</i>	Cultura	Micromun	0,052
<i>Astrovirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,074
<i>C. difficile</i>	Cultura	VPI 1640	0,052
<i>C. perfringens</i> 50 µg/ml	Toxoide	Controle de kit <i>C. perfringens</i> enterotoxina A	0,057
<i>C. sordellii</i>	Cultura	tgcBiomics	0,052
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultura	DSM 5361	0,060
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	DSM 4688	0,050
<i>Campylobacter</i>	Fezes	Routine lab	0,037
<i>Candida albicans</i>	Cultura	ATCC 10231	0,079
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	DSM 30039	0,094
<i>Citrobacter spp.</i>	Cultura	DSM 30047	0,070
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	Waterborne Inc.	0,051
<i>E. coli</i>	Cultura	LMU München	0,078
<i>E. coli</i>	Cultura	LMU München	0,074
<i>E. coli</i>	Cultura	LMU München	0,062
<i>E. coli</i> (O111:H-)	Cultura	LMU München	0,079
<i>E. coli</i> (O116:H21)	Cultura	LMU München	0,073
<i>E. coli</i> (O157:H-)	Cultura	LMU München	0,096
<i>E. coli</i> (O22:H8)	Cultura	LMU München	0,095
<i>E. coli</i> (O26:H11)	Cultura	LMU München	0,078
<i>E. hermannii</i>	Cultura	DSM 4560	0,049
<i>Entamoeba histolytica</i>	Fezes	TI Berlin	0,043
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	DSM 30054	0,071
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	DSM 2570	0,078
<i>Enterococcus faecium</i>	Cultura	DSM 20477	0,090
<i>Giardia lamblia</i>	Fezes	TI Berlin	0,039

<i>H. pylori</i>	Inativada H. pylori lysate	Controle de kit RIDASCREEN FemtoLab H. pylori	0,071
<i>Helicobacter pylori</i>	Cultura	DSM 4867	0,051
<i>Lactococcus lactis</i>	Cultura	DSM 20481	0,070
<i>Listeria innocua</i>	Cultura	DSM 20649	0,060
<i>Morganella morganii</i>	Cultura	DSM 6675	0,054
<i>Proteus mirabilis</i>	Cultura	DSM 788	0,050
<i>Proteus mirabilis</i>	Cultura	DSM 4479	0,052
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	DSM 30119	0,052
<i>Providencia stuartii</i>	Cultura	DSM 6676	0,073
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	DSM 939	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Cultura	DSM 4358	0,058
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Cultura	DSM 50124	0,069
<i>Pseudomonas putida</i>	Cultura	DSM 291	0,056
<i>Rotavirus</i>	Cultura	Microbix	0,059
<i>Rotavirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,059
<i>Salmonella agona</i>	Cultura	LMU München	0,052
<i>Salmonella choleraesuis</i>	Cultura	DSM 4224	0,053
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	DSM 9898	0,065
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	Routine lab	0,065
<i>Salmonella infantis</i>	Cultura	LMU München	0,053
<i>Salmonella ohio</i>	Cultura	LMU München	0,053
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	DSM 554	0,050
<i>Sapovirus</i>	Fezes	TU Dresden	0,066
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultura	DSM 4487	0,039
<i>Shigatoxin STX1</i>	Toxoide	Toxin Technology	0,054
<i>Shigatoxin STX2</i>	Toxoide	Toxin Technology	0,054
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	DSM 4782	0,040
<i>Shigella sonnei</i>	Cultura	DSM 5570	0,048
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	DSM 20372	0,064
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Cultura	DSM 2134	0,090
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Cultura	DSM 20662	0,074
<i>Streptococcus uberis</i>	Cultura	DSM 20569	0,071

13.3 Precisão

A reprodutibilidade do RIDASCREEN® Adenovirus 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. Os valores médios e os coeficientes de variação (VC) de três lotes foram determinados.

Para a reprodutibilidade entre ensaio, 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 todos os três lotes. Os resultados desse estudo são mostrados na Tabela 4.

Tabela 4: Reprodutibilidade e precisão do RIDASCREEN® Adenovirus ELISA

Referências	Valor médio / VC	Intraensaio			Entre ensaios			Entre lotes
		Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lote de kits 1	Lote de kits 2	Lote de kits 3	Lotes de kits 1-3
1	MV	2,236	2,732	3,170	2,363	2,199	2,408	2,323
	VC (%)	5,11 %	6,67 %	6,08 %	15,39 %	20,81 %	19,91 %	18,95 %
2	MV	1,359	1,590	1,975	1,411	1,368	1,559	1,446
	VC (%)	5,16 %	4,03 %	9,64 %	14,28 %	21,66 %	18,81 %	19,35 %
3	MV	1,244	1,222	1,321	1,096	1,162	1,261	1,173
	VC (%)	8,07 %	6,14 %	8,16 %	13,66 %	17,75 %	18,93 %	18,23 %
4	MV	0,813	0,899	1,014	0,794	0,822	0,862	0,826
	VC (%)	7,75 %	7,81 %	15,22 %	16,20 %	24,41 %	18,37 %	20,03 %
5	MV	0,597	0,622	0,800	0,570	0,587	0,635	0,597
	VC (%)	7,88 %	5,78 %	11,73 %	16,92 %	23,77 %	16,84 %	19,79 %
6	MV	0,368	0,394	0,588	0,407	0,434	0,462	0,434
	VC (%)	8,27 %	6,63 %	19,65 %	24,65 %	24,35 %	17,00 %	22,43 %

13.4 Sensibilidade analítica

O limite de detecção do RIDASCREEN® Adenovirus ELISA foi determinado com uma diluição em série de uma amostra de fezes quantificada por microscopia imunoelétrica (MIE). As medições foram realizadas em triplicado, com base em um título de vírus de $1,3 \times 10^7$ partículas/ml. O limite de detecção foi definido como $3,25 \times 10^2$ 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® Adenovirus ELISA

MIE	RIDASCREEN® Adenovirus	
Partículas de vírus/ml	Valor médio [OD 450]	Resultados
$6,5 \times 10^5$	1,784	Positivo
$6,5 \times 10^4$	3,993	Positivo
$3,25 \times 10^4$	4,030	Positivo
$1,63 \times 10^4$	4,032	Positivo
$8,2 \times 10^3$	4,135	Positivo
$6,5 \times 10^3$	4,245	Positivo
$3,25 \times 10^3$	3,753	Positivo
$1,63 \times 10^3$	2,858	Positivo
$8,2 \times 10^2$	1,718	Positivo
$6,5 \times 10^2$	1,126	Positivo
$3,25 \times 10^2$	0,305	Positivo
$1,63 \times 10^2$	0,054	Negativo

13.5 Substâncias interferentes

As substâncias da lista a seguir não apresentaram efeitos sobre os resultados do teste quando misturadas com as amostras de fezes positivas e negativas para o Adenovirus nas concentrações descritas:










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

14. Histórico de versões


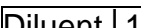
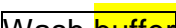
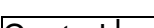
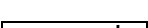
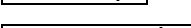
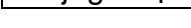
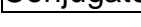

Número da versão	Capítulo e designação
2017-04-20	Versão anterior
2019-07-08	Revisão geral 4. Reagentes fornecidos 8. Coleta e armazenamento de espécimes 9.2 Preparação do tampão de lavagem 9.5 Lavagem

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. Horwitz, M.S.: Adenoviral Diseases. In B.N. Fields, ed. Virology, Raven Press, New York, 477-495.
2. Wigand, R. and Th. Adrian: Die Diagnostik von Adenovirus-Infektionen. Internist 26, 109-112 (1985).
3. Wigand, R.: Klinische Relevanz von Adenovirusinfektionen. Laboratoriumsblätter 30, 118 -123 (1980).
4. Brandt, C.D., H.W.Kim, A.J. Vargosdo, B.C. Jeffries, J.O. Arrobio, B.Rindge, R.H. Parrot and R.M. Chanock: Infections in 18.000 infants and children in a controlled study of respiratory tract disease. I. Adenovirus pathogenicity in relation to serologic type and illness syndrome. Am. J. Epidemiol. 90, 484-500 (1969).
5. Mallet, R., M. Riberre, F. Bonnenfant, B. Labrune and L. Reyrole: Les pneumopathies graves a adeno-virus. Arch. Fr. Pediatr. 23, 1057-1073 (1966).
6. Kemp, M.C., J.C. Hierholzer, C.P. Cabradilla and J.F. Obijesti: The changing etiology of epidemic keratoconjunctivitis: Antigenic and restriction enzyme analysis of adenovirus types 19 and 37 isolated over a 10 year period. J. Infect. Dis. 148, 24-33 (1983).
7. Foy, H.M., M.K. Cooney and J.B. Hatlen: Adenovirus type 3 epidemic associated with intermittend chlorination of a swimming pool. Arch. Environ. Health 17, 795-802 (1968).
8. De Jong, P.J., G. Valderrama, I. Spigland and M.S. Horwitz: Adenovirus isolates from the urines of patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Lancet 1, 1293-1296 (1983).
9. Takiff, H.F., S.E. Straus and C.F. Garon: Propagation and in vitro studies of previously non-cultivable enteric adenoviruses in 293 cells. Lancet 2, 832-834 (1981).
10. Herrmann, J.E., D.M. Perron-Henry, D. Stobbs-Walro and N.R. Blacklow: Preparation and characterization of monoclonal antibodies to enteric adenovirus types 40 and 41. Arch. Virology 94, 259-265 (1987).
11. Uhnoo, I., G. Wadell, L. Svensson and M.E. Johansson: Importance of enteric adenoviruses 40 and 41 in acute gastroenteritis in infants and young children. J. Clin. Microbiol. 20, 365-372 (1984).
12. Kidd, A.H., E.H. Harley and M.J. Erasmus: Specific detection and typing of adenovirus types 40 and 41 in stool specimens by dot-blot hybridization. J. Clin. Microbiol. 22, 934-939 (1985).
13. Cukor G. and N.R. Blacklow: Human viral gastroenteritis. Microbiological Reviews 48, 157 -179 (1984).
14. Mogabgab, W.J.: Mycoplasma pneumonia and adenovirus respiratory illnesses in military and university personnel, 1959-1966. Am. Rev. Respir. Dis. 97, (345 - 358) (1968).
15. Richmond, S.J., E.O. Caul, S.M. Dunn, C.R. Ashley, S.K.R. Clarken: An outbreak of gastroenteritis in young children caused by adenoviruses. Lancet 1, 1178-1180 (1979).

16. Chiba, S., S. Nakata, I. Nakamura, K. Taniguchi, S. Urasawa, K. Fujinaga and T. Nakao: Outbreak of infantile gastroenteritis due to type 40 adenovirus. *Lancet* 2, 954-957 (1983).
17. E.H. Lennette and N.J. Schmidt: *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, Fifth edition, 1979, American Public Health Associates, Inc., Washington, D. C., 241 - 242, 229-255.
18. Cepko, C.L., C.A. Whetstone and P.A. Sharp: Adenovirus hexon monoclonal antibody that is group specific and potentially useful as a diagnostic reagent. *J. Clin. Microbiol.* 17, 360-364 (1983).