

RIDA[®]QUICK Rotavirus

N.º do art.: N0903



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt, Alemanha
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax: +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Finalidade

Para diagnóstico *in vitro*. O RIDA®QUICK Rotavirus é um teste rápido imunocromatográfico para a detecção qualitativa de rotavírus nas amostras de fezes.

2. Resumo e explicação do teste

Os **rotavírus** são os agentes patogênicos mais importantes de uma gastroenterite não bacteriana nas crianças de 6 meses a 3 anos. Eles, porém, também são detectados em crianças mais velhas e em adultos como causadores de doenças. Em grupo de risco, ou seja, em crianças ou em pacientes idosos ou imunossuprimidos, eles podem levar à morte. As infecções com rotavírus ocorrem com frequência nos meses de inverno. As endemias e as epidemias com alguns milhares de doentes também foram descritas. As crianças hospitalizadas com enterites agudas, até 50 % das amostras examinadas são rotavírus positivas. Os rotavírus transmitidos por via oral e anal são expelidos em grandes quantidades no intestino, de modo que as infecções nosocomiais causados por rotavírus são muito temidas nos recém-nascidos e nas crianças pequenas e o seu tratamento é difícil. Portanto, uma detecção prévia e segura para o reconhecimento do rotavírus e para evitar outras infecções também é muito importante.

3. Princípio do teste

O teste rápido disponível é um teste Lateral-Flow imunocromatográfico, no qual anticorpos específicos dispostos contra rotavírus são acoplados a partículas de látex vermelhas. Outros anticorpos específicos contra o agente patogênico são ligados firmes na membrana. Depois a amostra de fezes é suspensa no tampão de extração e então sedimentada. Uma parte do supernatante claro da amostra é colocada na tira de teste, sendo que esta então passa pela membrana com as partículas coloridas de látex, às quais em caso positivo o antígeno disponível se liga, e se une às tiras de captação específicas.

4. Conteúdo da embalagem

Os reagentes de uma embalagem são suficientes para 20 doses

Cassette	20 doses	20 cartuchos de teste embalados individualmente
Diluent	26 ml	Tampão de extração, pronto para o uso; contém 0,1 % Azida de sódio
Pipet	25 unidades	Saco com 25 pipetas descartáveis

5. Reagentes e a sua armazenagem

A embalagem pode ser armazenada a 2 – 30 °C e deve ser usada até a data de expiração impressa. Após a expiração da data de validade, nenhuma garantia de qualidade pode ser oferecida. Do mesmo modo, a capacidade de uso dos cartuchos não pode mais ser garantida se a embalagem dos cartuchos individuais estiver danificada.

6. Reagentes e equipamentos adicionais necessários

- Tubo de amostra para suspensão de fezes
- Mixer Vortex (opcional)
- Micropipeta (200 µl – 1000 µl)
- Contentor para lixo com uma solução de hipocloreto de sódio de 0,5 %

7. Medidas de precaução

Para diagnóstico *in vitro*.

Este teste só deve ser efetuado pelo pessoal de laboratório instruído. As regras de trabalho nos laboratórios médicos devem ser observadas. As instruções de uso para a execução do teste devem ser estritamente observadas.

O tampão de diluição de amostra contém azida de sódio como conservante. Evitar o contato com a pele ou com as mucosas.

Não pipetar as amostras ou reagentes com a boca, evitar o contato com a pele ferida ou mucosas.

Durante o manejo de amostras, deve usar luvas descartáveis e, após o término do teste, deve-se lavar as mãos. Nas áreas, nas quais se trabalha com as amostras, não fumar, comer ou beber.

Todos os materiais e reagentes, que vêm junto com as amostras potencialmente infecciosas, devem ser manejados com desinfetantes adequados (p. ex. hipocloreto de sódio) ou autoclavados pelo menos 1 hora a 121 °C.

8. Coleta e armazenagem das amostras

As amostras de fezes devem ser coletadas em frascos limpos sem aditivos e armazenadas antes do teste a 2 – 8 °C. No caso de uma armazenagem de mais de 3 dias, a amostra deve ser congelada a -20 °C. Neste caso, a amostra é descongelada totalmente antes do teste e exposta a temperatura ambiente. Deve-se evitar um congelamento e descongelamento repetido das amostras.

Se coletas anais forem utilizadas, deve-se observar que material de fezes suficiente (aprox. 50 mg) esteja disponível para o teste.

9. Execução do teste

9.1. Generalidades

Antes da utilização, as amostras, o tampão de extração e o cartucho do teste devem ser colocados em temperatura ambiente (20 – 25 °C). Os cartuchos de teste só devem ser retirados um pouco antes da utilização abrindo a embalagem. Os cartuchos não podem ser usados mais de uma vez. A luz do sol direta durante a execução do teste deve ser evitada.

O reagente restante não deve ser colocado de volta nos vasos, pois isto pode levar a uma contaminação.

9.2. Preparação das amostras

Em um tubo de amostra marcado, é colocado 1 ml de tampão de extração **Diluent**. No caso de amostras de fezes **líquidas**, 100 µl destas são suspensas com a pipeta descartável **Pipet** (até um pouco acima do segundo espessamento) no tampão disponível. No caso de amostra de fezes **sólidas**, são suspensos 50 mg no tampão. Depois, a amostra deve ser bem homogeneizada. Isto é feito através de absorção múltipla e batida da suspensão com a pipeta descartável **Pipet** ou alternativamente através da mistura em um mixer Vortex.

Depois, deixar sedimentar a suspensão homogênea pelo menos **3 minutos** até que se forme um supernatante claro.

9.3. Teste das amostras

O cartucho de teste **Cassette** retirado da embalagem é depositado em uma superfície plana. Depois são pipetados do supernatante claro da suspensão de fezes 200 µl através da micropipeta ou 4 gotas com a pipeta descartável **Pipet** no orifício redondo do cartucho de teste. Deve-se observar que o líquido passe sem problemas pela membrana. As eventuais partículas pipetadas junto, que possam causar problemas, devem ser retiradas antes. Após **5 minutos** o resultado do teste deve ser lido.

10. Controle de qualidade – Sinais da expiração do reagente

O teste só deve ser avaliado se a tira de teste estiver intacta **antes** da pipetagem da suspensão de amostras produzida e não se pode ver modificações ou tiras coloridas. Além disso, **após** a incubação do teste, pelo menos a tira de controle **azul** deve ser visível. Se ela não aparece, antes de repetir o teste deve-se verificar o seguinte:

- Durabilidade dos cartuchos de teste e do tampão de extração utilizado
- Execução correta do teste
- Contaminação do tampão de extração

Se após a repetição do teste com um novo cartucho de teste a tira de controle não for visível, entre em contato com o fabricante ou com o seu distribuidor local R-Biopharm.

11. Avaliação e interpretação

Só podem aparecer duas tiras, vistas da posição de coleta da amostra na seguinte sequência: uma tira de reação vermelha e uma tira de controle azul. **Se faltar a tira de controle azul o teste não é avaliável e é inválido !**

As seguintes interpretações são positivas:

Rotavírus positivo : as tiras **vermelha** e **azul** são visíveis.

- **Rotavírus negativo** : somente a tira **azul** é visível.
- **Inválido** : nenhuma tira visível ou uma constelação diferente daquela descrita, bem como outras colorações nas tiras. Do mesmo modo, as colorações das tiras que só aparecem após 10 minutos ou depois não têm valor diagnóstico e não devem ser avaliadas.

12. Limites do método

O RIDA®QUICK Rotavirus detecta antígenos de rotavírus nas amostras de fezes. Uma relação entre a intensidade das tiras específicas visíveis e dos sintomas presentes ou altamente clínicos não pode ser ignorada aqui. **Os resultados alcançados devem sempre ser interpretados em conjunto com o quadro clínico.**

Um resultado **positivo** não exclui a presença de outros agentes patogênicos.

Um resultado **negativo** não exclui uma possível infecção com rotavírus. Ele pode ter sido causado pela segregação do agente patogênico ou por uma quantidade muito pequena de antígeno na amostra. Se houver de forma amnésica a suspeita fundada de uma infecção com o agente patogênico procurado, uma outra amostra de fezes do paciente deve ser examinada.

Uma quantidade demasiada de amostra de fezes pode causar tiras marrons ao invés das tiras coloridas com as cores específicas. Estas tiras marrons não têm valor diagnóstico. Nestes casos, é necessário fazer um novo teste com uma quantidade menor de fezes ou uma outra diluição da suspensão já preparada (supernatante claro após a sedimentação), para verificar se o agente patogênico procurado está na amostra ou se foi introduzido em excesso através de quantidade demasiada de matriz de fezes.

13. Características de desempenho

A sensibilidade e a especificidade do teste presente foram testadas de acordo com as amostras clínicas em comparação com um Elisa comercial. Os resultados estão resumidos na seguinte tabela.

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

Sensibilidade: 100 %

Especificidade: 99 %

Pos. valor previsto: 99,1 %

AmostraValor previsto: 100 %

Além disso, o teste rápido RIDA®QUICK Rotavirus foi comparado num estudo retrospectivo com um outro teste rápido combinado à venda no comércio por meio de métodos PCR. As amostras analisadas provêm de um estudo multicêntrico com crianças de idade inferior a 4 anos que foram tratadas em ambulatório ou em internamento por sintomas de gastroenterite.

Os resultados estão resumidos na tabela 2.

		RIDA®QUICK Rotavirus		Coris Bioconcept Rota-Stick	
		+	-	+	-
PCR	+	46	0	45	1
	-	3	51	1	53
Sensibilidade		100 %		97,8 %	
Especificidade		94,4 %		98,1 %	
PPV		93,9 %		97,8 %	
NPV		100 %		98,1 %	
Precisão		97,0 %		98,0 %	

Literatura

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., Liong, 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. Microb. 19, 888-892 (1984)