

RIDA® GENE Viral Stool Panel II

REF PG1325



1. Uso previsto

Para utilização em diagnóstico *in-vitro*. RIDA®GENE Viral Stool Panel II é uma RT-PCR em tempo real multiplex para a detecção e diferenciação direta e qualitativa de rotavírus, adenovírus 40/41 e astrovírus em amostras de fezes humanas.^{1,2,3}

A RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II destina-se ao uso como auxílio no diagnóstico de gastroenterite causada por rotavírus, adenovírus 40/41 e astrovírus, respectivamente.

2. Sumário e explicação do teste

Gastroenterite aguda é uma das principais causas de morbidade e de mortalidade em todo o mundo. Especialmente em crianças, os vírus entéricos são a principal causa de gastroenterite. Nos EUA, as infecções virais causam aproximadamente 30,8 milhões de casos de gastroenterite anualmente.⁴ Os patógenos mais importantes que causam diarreia são o rotavírus, o adenovírus e o astrovírus. Os rotavírus pertencem à família *Reoviridae* de vírus de RNA de cadeia dupla icosaédrica não envelopados (dsRNA). Os sintomas da infecção por rotavírus geralmente são vômitos, diarreia aquosa e dor abdominal. O vírus é transmitido pela via fecal-oral através de mãos e objetos contaminados. O rotavírus é a principal causa de diarreia em crianças menores de cinco anos e é responsável pela morte de cerca de 611.000 crianças em todo o mundo a cada ano.⁵ Os rotavírus são classificados em sete sorogrupos de A a G, onde os vírus do sorogrupo A são os de maior importância epidemiológica.⁸

Os astrovírus são vírus de cadeia simples (ssDNA) e pertencem à família de *Astroviridae*. Uma gastroenterite dependente de astrovírus se manifesta principalmente por diarreia, mas também pode ser acompanhada de vômito e febre. Nos países desenvolvidos, a incidência de astrovírus é de 2 a 9 %, onde a doença afeta principalmente crianças menores de dois anos.⁷ Atualmente, existem 8 sorotipos descritos, sendo os sorotipos 1 a 5 os mais relevantes. A infecção é transmitida por alimentos contaminados, pela água e pela via fecal-oral.

Os adenovírus pertencem à família *Adenoviridae* de vírus icosaédricos de cadeia dupla (dsDNA) não envelopados. Um diferencia 56 sorotipos de adenovírus humanos e eles são classificados em sete grupos (A - G). Os adenovírus causam principalmente doenças respiratórias, enquanto a gastroenterite é causada principalmente pelos sorotipos 40 e 41. Os sorotipos 1, 2, 5, 6, 12, 18 e 31 raramente são associados à diarreia aguda e, portanto, não são detectados por este teste de PCR em tempo real.^{6,9}

3. Princípio do teste

A RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II é um teste de diagnóstico molecular para a detecção e diferenciação direta e qualitativa de RNA do rotavírus, RNA de astrovírus e DNA do adenovírus 40/41 de amostras de fezes

humanas. A detecção é efetuada num formato de RT-PCR em tempo real numa única etapa, onde a transcrição reversa é seguida pela PCR no mesmo tubo de reação. O RNA isolado é transcrito para cDNA por uma transcriptase reversa. Fragmentos de genes específicos para rotavírus (NSP3), astrovírus (CAP; proteína capsídica) e Adenovírus 40/41 (Hexon) são posteriormente amplificados por PCR em tempo real. Os alvos amplificados são detectados com sondas de hidrólise, que estão marcadas em uma extremidade com um supressor e na outra extremidade com um corante repórter fluorescente (fluoróforo). Na presença de um alvo, as sondas hibridizam para os fragmentos amplificados. Durante a fase de extensão, a **Taq-polymerase** quebra a proximidade entre o repórter e o supressor. O repórter emite um sinal fluorescente que é detectado pela unidade ótica de um instrumento de PCR em tempo real. O sinal fluorescente aumenta com a quantidade de fragmentos amplificados formados. O teste RIDA®GENE Viral Stool Panel II contém um **Internal Control RNA** (ICR) como um controle interno de procedimento de preparação de amostra e para determinar a eventual inibição da PCR.

4. Reagentes fornecidos

Tab. 1: Reagentes fornecidos (Os reagentes fornecidos no kit são suficientes para 100 determinações)

Código do kit	Reagente	Quantidade		Cor da tampa
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	amarelo
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	vermelho
R	Internal Control RNA	2x	1700 µl	castanho
N	No Template Control	1x	450 µl	branco
P	Positive Control	1x	200 µl	azul

5. Instruções de armazenamento

- Proteja todos os reagentes da luz e armazene a -20 °C. Todos os reagentes podem ser usados até ao fim do prazo de validade. Depois de vencido o prazo, a garantia da qualidade já não é válida.
- Descongele cuidadosamente os reagentes antes de usar (por ex., em um frigorífico a 2 - 8 °C).
- Os reagentes podem sustentar até 20 ciclos de congelamento sem influenciar o desempenho do teste (por ex., após o primeiro descongelamento, separe-os em alíquotas e congele-os imediatamente).
- Durante a preparação da PCR, todos os reagentes devem ser conservados a frio de forma adequada (2 a 8 °C).

6. Reagentes adicionais e equipamentos necessários

O teste de RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II é adequado para ser usado com as seguintes plataformas de extração e instrumentos de PCR em tempo real:

Tab. 2: Equipamento necessário

Plataforma de extração	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
Instrumento de PCR em tempo real	
Roche	LightCycler® 480II, LightCycler® 480 z
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

Indicação: Use com Rotor-Gene Q (QIAGEN) apenas tubos de 0,1 ml.

Se quiser usar outras plataformas de extração ou instrumentos de PCR em tempo real, entre em contato com a R-Biopharm em mdx@r-biopharm.de.

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) para executar o LightCycler® 480II e o LightCycler® 480 z
- Consumíveis de PCR em tempo real (placas, tubos, película)
- Centrífuga com um rotor para tubos de ensaio
- Vortexer
- Pipetas (0,5 - 20 µl, 20 - 200 µl, 100 - 1000 µl)
- Ponteiros de filtro
- Luvas descartáveis sem pó
- Água PCR (livre de nuclease)

7. Medidas preventivas

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

- Esse teste deve ser realizado apenas por pessoal de laboratório treinado. As diretrizes para trabalho em laboratórios médicos devem ser seguidas.
- O manual de instruções de realização do teste deve ser seguido.
- Não pipete amostras ou reagentes com a boca. Evite o contato com membranas mucosas ou pele com hematoma.
- Durante o manuseio de reagentes ou amostras, vista roupa de segurança adequada (luvas, avental de laboratório e óculos de segurança apropriados), e lave as mãos após concluir a realização do teste.
- Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras ou reagentes estiverem sendo usados.
- A extração, a preparação da PCR e a execução da PCR devem ser separadas em salas diferentes para evitar contaminações cruzadas.
- As amostras devem ser tratadas como potencialmente infecciosas, bem como todos os reagentes e materiais expostos às amostras, devendo ser manuseados conforme os regulamentos nacionais de segurança.
- Não use o kit após o prazo de validade.
- Todos os reagentes e materiais usados devem ser descartados de modo adequado após o uso. Para o descarte, consulte as normas nacionais relevantes.

Para mais detalhes, consulte as Folhas de Dados de Segurança (SDS) em www.r-biopharm.com

8. Coleta e armazenamento de amostras

8.1 Preparação da amostra de amostras de fezes

Para isolamento de DNA/RNA de amostras de fezes humanas, use um kit de extração de ácido nucleico disponível no mercado (por ex., RIDA[®] Xtract (R-Biopharm)) ou sistema de extração de ácido nucleico (por ex., Maxwell[®] RSC (Promega)). Extraia o ácido nucleico viral de acordo com as instruções do fabricante. Recomendamos a diluição das amostras de fezes em água 1:10 antes de realizar a extração. Agite em vórtice rapidamente e centrifugue a 13.000 x g durante 1 min. Use o volume apropriado a partir do sobrenadante de acordo com as instruções do fabricante.

O teste RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II contém um **Internal Control RNA** que detecta a inibição de PCR, monitora a integridade do reagente e confirma que a extração do ácido nucleico foi suficiente. O **Internal Control RNA** pode ser utilizado como controle de inibição de PCR ou como controle de extração para o procedimento de preparação de amostra e como controle de inibição PCR.

Se o **Internal Control RNA** for usado apenas como controle de inibição de PCR, deve ser adicionado 1 µl de **Internal Control RNA** à mistura principal (consulte a Tab 4).

Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o procedimento de preparação da amostra e como controle de inibição da PCR, durante o procedimento de extração, devem ser adicionados 20 µl do **Internal Control RNA**. O **Internal Control RNA** deve sempre ser adicionado à mistura amostra-tampão de lise e **não** deve ser adicionado diretamente à amostra. Recomendamos também adicionar 1 µl do **Internal Control RNA** à mistura de PCR do controle negativo e positivo.

9. Realização do teste

9.1 Preparação da mistura principal

Calcule o número total de reações PCR (reações de amostra e de controle) necessárias. Em cada ensaio realizado, devem ser incluídos um controle positivo e um controle negativo.

É recomendado calcular um volume adicional de 10 % para compensar pipetagens imprecisas (ver Tab.3, Tab.4). Antes de usar, descongele, misture cuidadosamente e centrifugue brevemente a **Reaction Mix**, a **Enzyme-Mix**, o **Positive Control**, o **No Template Control** e **Internal Control RNA**. Mantenha os reagentes frios o suficiente durante a etapa (2 a 8 °C).

Tab. 3: Exemplo de cálculo e pipetagem para 10 reações da mistura principal (ICR como controle de extração e inibição de PCR)

Código do kit	Componentes da mistura principal	Volume por reação	10 reações (10 % extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme-Mix	0,7 µl	7,7 µl
	Total	20 µl	220 µl

Misture os componentes da mistura principal cuidadosamente e centrifugue brevemente.

Tab. 4: Cálculo e exemplo de pipetagem para 10 reações da mistura principal (ICR apenas como controle de inibição da PCR)

Código do kit	Componentes da mistura principal	Volume por reação	10 reações (10 % extra)
1	Reaction Mix	19,3 µl	212,3 µl
2	Enzyme-Mix	0,7 µl	7,7 µl
R	Internal Control RNA	1,0 µl	11 µl
	Total	21,0 µl	231,0 µl

Misture os componentes da mistura principal cuidadosamente e centrifugue brevemente.

9.2 Preparação da mistura de PCR

Pipete 20 µl da mistura principal em cada tubo de ensaio (tubo ou placa).

Controle negativo: Adicione 5 µl de **No Template Control** à mistura principal pré-pipetada.

Indicação: Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o procedimento de preparação da amostra e como controle de inibição da PCR, recomendamos adicionar 1 µl do **Internal Control RNA** à mistura de PCR do controle negativo.

Amostra: Adicione 5 µl de extrato de RNA à mistura principal pré-pipetada.

Controle positivo: Adicione 5 µl de **Positive Control** à mistura principal pré-pipetada.

Indicação: Se o **Internal Control RNA** for usado como um controle de extração para o procedimento de preparação da amostra e como controle de inibição da PCR, recomendamos adicionar 1 µl do **Internal Control RNA** à mistura de RT-PCR do controle positivo.

Cubra os tubos ou a placa. Centrifugue e coloque no instrumento de PCR em tempo real. A reação de RT-PCR deve ser iniciada de acordo com as definições do instrumento de PCR (consulte Tab. 5. Tab. 6).

9.3 Configuração do instrumento de PCR

9.3.1 Perfil de RT-PCR em tempo real universal

Tab. 5: Perfil RT-PCR em tempo real universal para LightCycler® series

<u>Transcrição reversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturação inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturação	10 s, 95 °C
Recozimento/Extensão	15 s, 60 °C
Índice da temperatura de transição / Índice de subida	Máximo

Indicação: O recozimento e a extensão ocorrem no mesmo passo.

Tab. 6: Perfil de RT-PCR em tempo real universal para Mx3005P, ABI7500, Rotor-Gene Q e CFX96™

<u>Transcrição reversa</u>	10 min, 58 °C
Desnaturação inicial	1 min, 95 °C
Ciclos	45 ciclos
<u>PCR</u> Desnaturação	15 s, 95 °C
Recozimento/Extensão	30 s, 60 °C
Índice da temperatura de transição / Índice de subida	Máximo

Indicação: O recozimento e a extensão ocorrem no mesmo passo.

Indicação: O perfil de PCR em tempo real universal também pode ser utilizado em testes de DNA se houver a combinação dos testes RIDA®GENE DNA e PCR em tempo real de RIDA®GENE RNA em uma execução.

9.4 Configuração dos canais de detecção

Tab. 7: Seleção dos canais de detecção adequados

PCR em tempo real Gerät	Deteção	Canal de deteção	Indicação
Roche LightCycler® 480II	Rotavírus	465/510	É necessário o RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	533/580	
	Astrovírus	533/610	
	Adenovírus	618/660	
Roche LightCycler® 480 z	Rotavírus	465/510	É necessário o RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004)
	ICR	540/580	
	Astrovírus	540/610	
	Adenovírus	610/670	
ABI 7500	Rotavírus	FAM	Verifique se a opção de referência passiva ROX está em nenhum
	ICR	VIC	
	Astrovírus	ROX	
	Adenovírus	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	Rotavírus	FAM	Verifique se existe corante de referência
	ICR	HEX	
	Astrovírus	ROX	
	Adenovírus	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	Rotavírus	Verde	As configurações de ganho devem ser definidas em 5 de acordo com as configurações padrão
	ICR	Amarelo	
	Astrovírus	Laranja	
	Adenovírus	Vermelho	
Bio-Rad CFX96™	Rotavírus	FAM	-
	ICR	VIC	
	Astrovírus	ROX	
	Adenovírus	Cy5	

10. Controle de qualidade

A análise das amostras é realizada pelo software do instrumento de PCR em tempo real usado, de acordo com as instruções do fabricante. Os controles positivo e negativo devem mostrar resultados corretos (ver a Tabela 8, Fig. 1, Fig. 2, Fig. 3), para poder determinar uma execução válida.

O **Positive Control** para rotavírus, astrovírus e adenovírus 40/41 tem concentração de 10^3 cópias por μl . Em cada execução da PCR, ele é usado em um valor total de 5×10^3 cópias.

Tab. 8: Para uma execução válida, é necessário preencher as seguintes condições:

Amostra	Resultado do ensaio	ICR Ct	Ct Alvo
Controle positivo	Positivo	NA *1	Veja o Certificado de Garantia de Qualidade
Controle negativo	Negativo	Ct > 20	0

*1 Não é necessário um valor de Ct para o ICR para obter um resultado positivo do controle positivo.

Se o controle positivo não for positivo dentro do intervalo de Ct especificado, mas o Controle negativo for válido, prepare todas as reações incluindo os controles.

Se o controle negativo não for negativo, mas o controle positivo for válido, prepare todas as reações incluindo os controles.

Se os critérios exigidos não forem preenchidos, os itens a seguir devem ser verificados antes de repetir o teste:

- Data de validade dos reagentes utilizados
- Funcionalidade da instrumentação utilizada
- Desempenho correto de realização do teste

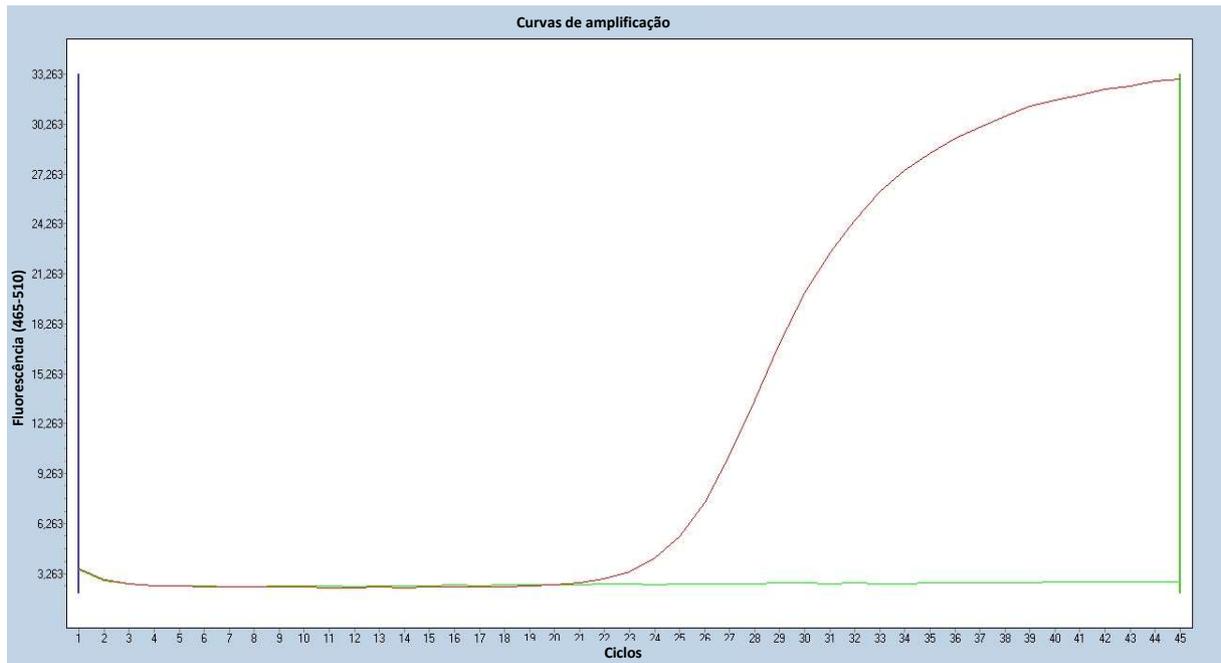


Fig. 1: Execução correta dos controles positivo e negativo (rotavírus) no LightCycler® 480II

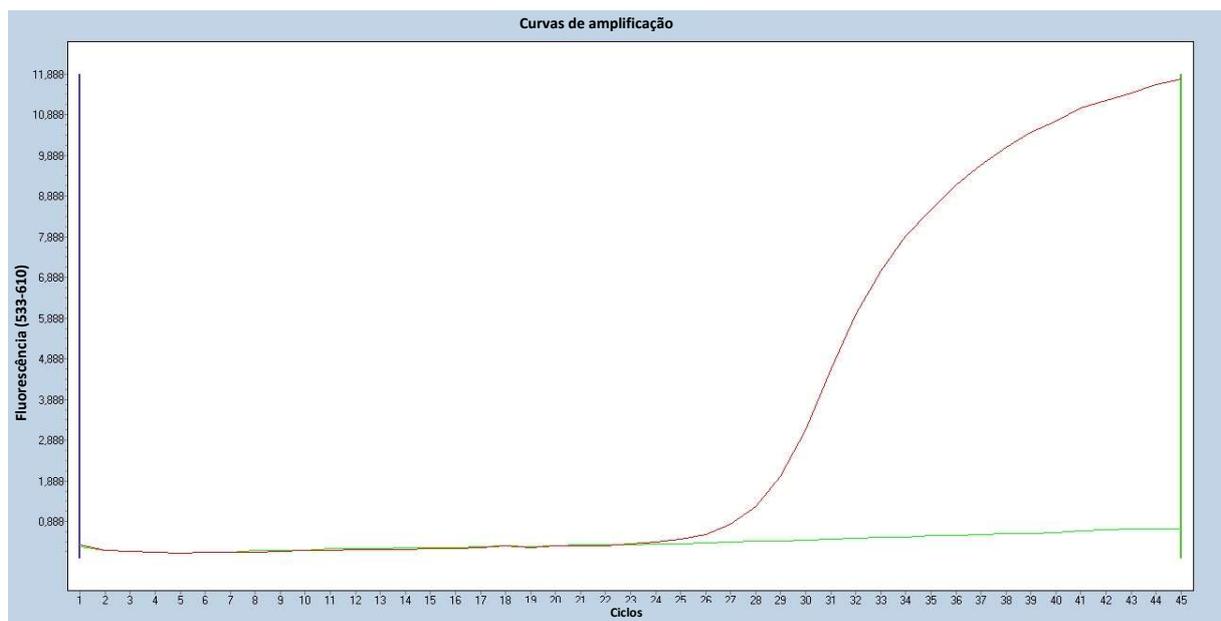


Fig. 2: Execução correta dos controles positivo e negativo (Astrovírus) no LightCycler® 480II

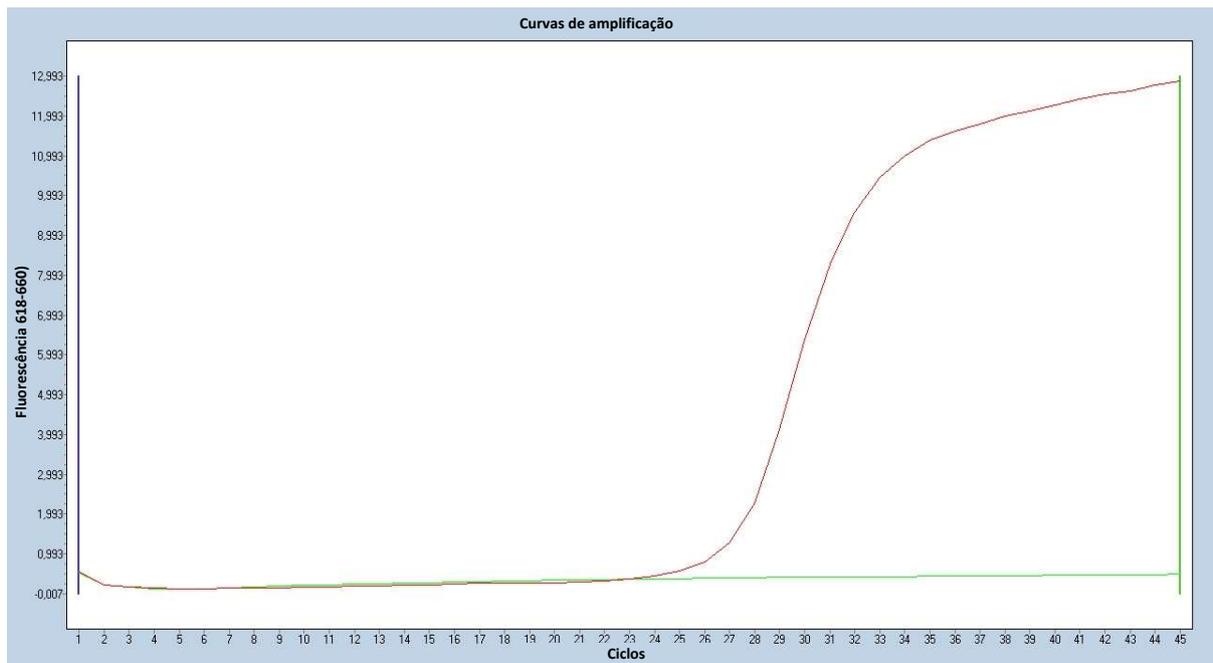


Fig. 3: Execução correta dos controles positivo e negativo (adenovírus) no LightCycler® 480II

11. Interpretação dos resultados

A interpretação dos resultados é realizada de acordo com a Tabela 9.

Tab. 9: Interpretação das amostras

Genes alvo				
Rotavírus	Astrovírus	Adenovírus	ICR	Resultado
positivo	negativo	negativo	positivo/negativo	Rotavírus detectado
negativo	positivo	negativo	positivo/negativo	Astrovírus detectado
negativo	negativo	positivo	positivo/negativo	Adenovírus detectado
positivo	positivo	negativo	positivo/negativo	Rotavírus e astrovírus detectados
positivo	negativo	positivo	positivo/negativo	Rotavírus e adenovírus detectados
negativo	positivo	positivo	positivo/negativo	Astrovírus e adenovírus detectados
positivo	positivo	positivo	positivo/negativo	Rotavírus, astrovírus e adenovírus detectados
negativo	negativo	negativo	positivo	Genes alvo não detectados
negativo	negativo	negativo	negativo	Inválido

Uma amostra é considerada positiva caso a amostra e o Internal Control RNA apresentem um sinal de amplificação no sistema de detecção.

Uma amostra também é considerada positiva se a amostra de RNA apresentar um sinal de amplificação, mas nenhum no Internal Control RNA no sistema de detecção. A detecção do Internal Control RNA não é necessária, porque as altas concentrações do fragmento amplificado podem causar um sinal fraco ou ausente do Internal Control RNA.

A amostra é considerada negativa se a amostra de RNA não apresentar um sinal de amplificação, mas sim um sinal de amplificação no Internal Control RNA no sistema de detecção. A inibição da reação de PCR pode ser excluída através da detecção no Internal Control RNA.

Uma amostra é considerada inválida, se a amostra de RNA e o Internal Control RNA não apresentarem nenhum sinal de amplificação no sistema de detecção. A amostra contém um inibidor de PCR. A amostra extraída precisa ser diluída adicionalmente com água PCR (1:10) e reamplificada, ou o isolamento e a purificação da amostra devem ser melhorados.

12. Limitações do método

1. O resultado da análise molecular não deve levar ao diagnóstico, mas sim ser sempre considerado no contexto do histórico médico e dos sintomas do paciente.
2. O teste RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II somente é validado para amostras de fezes.
3. A colheita, o transporte, a armazenagem e o processamento inadequados da amostra ou uma carga viral na amostra inferior à sensibilidade analítica podem resultar em falsos resultados negativos.
4. A presença de inibidores de PCR pode causar resultados inválidos.
5. Mutações ou polimorfismos na primeira coleta ou regiões de ligação de sonda podem afetar a detecção de novas variantes, acarretando um resultado falso negativo com o teste RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II.
6. Do mesmo modo que em todos os testes de diagnóstico *in vitro* com base em PCR, é possível detectar os níveis de alvo extremamente baixos, inferiores ao limite de detecção (LoD), mas os resultados podem não ser reproduzíveis.
7. Um resultado positivo nos testes não indica necessariamente a presença de organismos viáveis. No entanto, um resultado positivo é indicativo da presença dos genes alvo (rotavírus (NSP3), astrovírus (CAP; proteína capsídica), adenovírus 40/41(Hexon)).
8. Com o RIDA[®]GENE Viral Stool Panel II são detectados apenas os sorotipos de adenovírus 40 e 41, que causam principalmente gastroenterite. Os sorotipos 31, 12, 18, 1, 2, 5 e 6, que causam principalmente doenças respiratórias, também podem ser excretados nas fezes em pequenas quantidades, embora não sejam detectados com este ensaio.
9. Os lipídios (ácido esteárico/ácido palmítico) podem mostrar características interferentes já em pequenas quantidades.

13. Características de desempenho

13.1 Sensibilidade analítica

A RT-PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II possui limite de detecção de ≥ 50 cópias de RNA por reação.

As seguintes figuras 4, 5 e 6 apresentam uma série de diluição de rotavírus e astrovírus (10^5 - 10^1 cópias de RNA por μl) e de adenovírus (10^5 - 10^1 cópias de DNA por μl) no LightCycler® 480II.

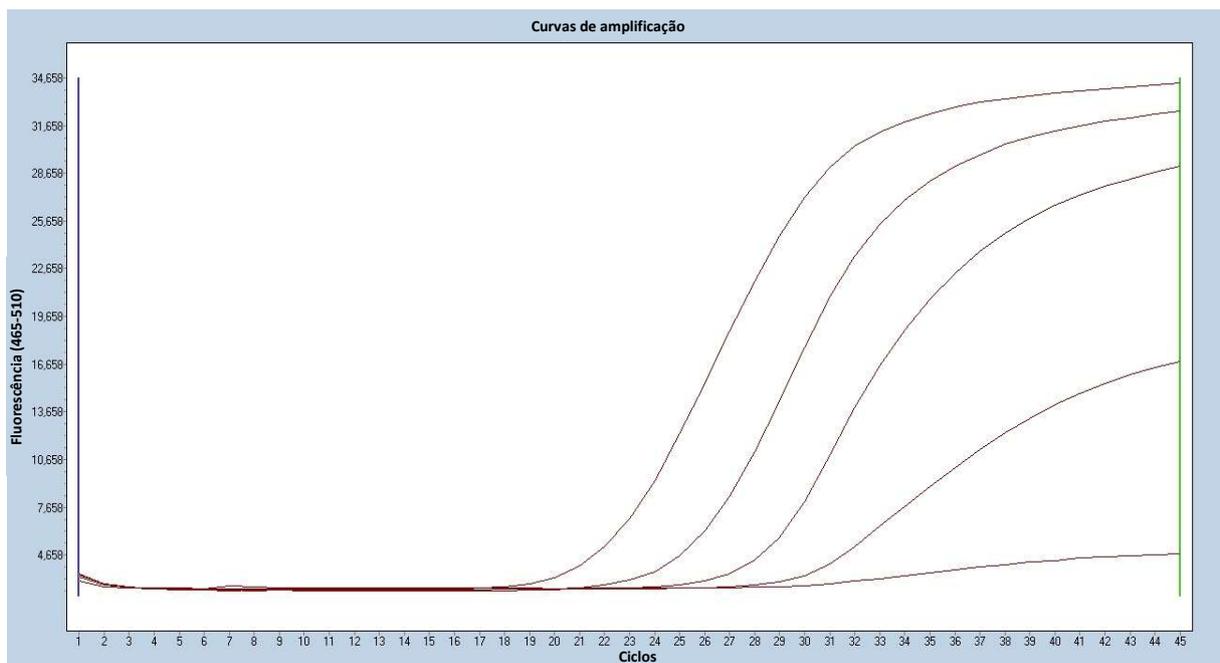


Fig. 4: Série de diluição de rotavírus (10^5 - 10^1 cópias de RNA por μl) no LightCycler® 480II

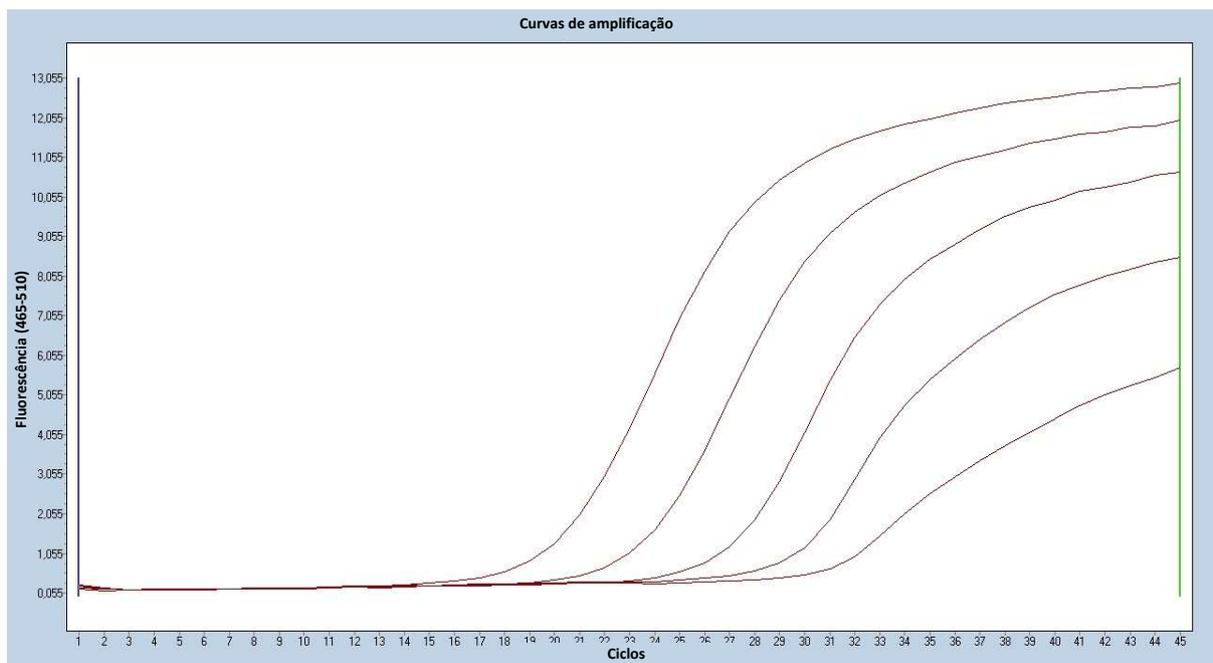


Fig. 5: Série de diluição de astrovírus (10^5 - 10^1 cópias de RNA por μ l) no LightCycler® 480II

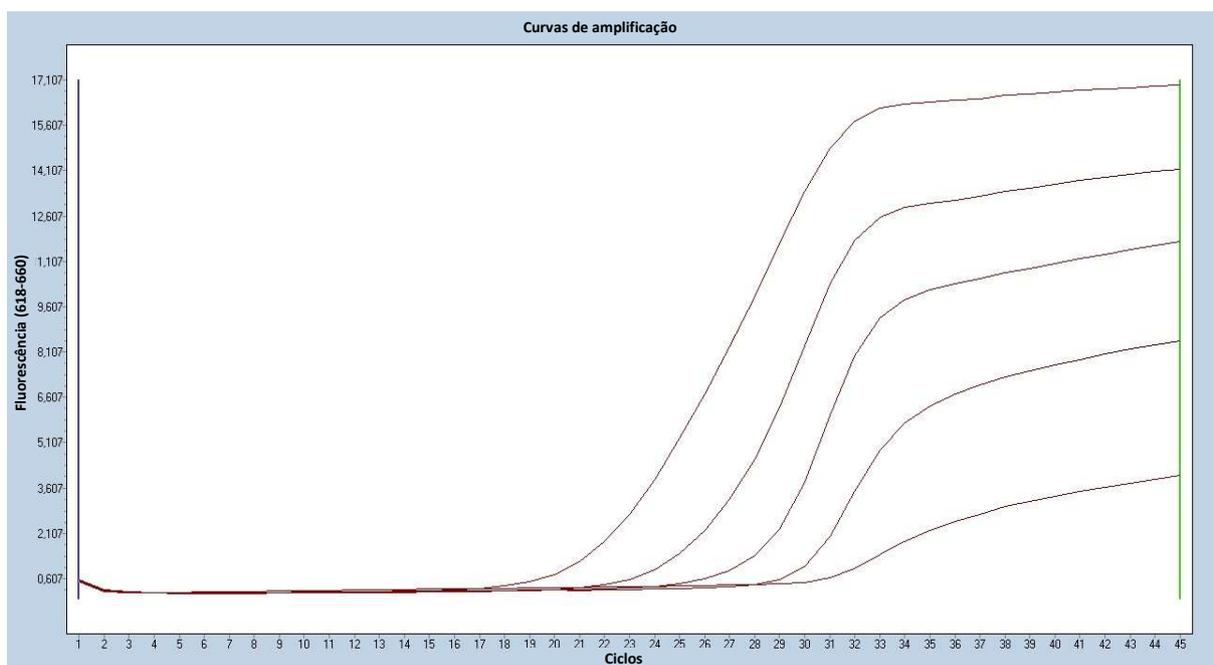


Fig. 6: Série de diluição de adenovírus (10^5 - 10^1 cópias de DNA por μ l) no LightCycler® 480II

O limite de detecção de todo o procedimento depende da matriz da amostra, da extração de DNA/RNA e da concentração de DNA/RNA.

13.2 Especificidade analítica

A especificidade analítica da PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II é específica para rotavírus, astrovírus e adenovírus 40/41. Não foi detectada nenhuma reação cruzada em relação às seguintes espécies (ver Tab.10):

Tab. 10: Testes de reatividade cruzada

Tipo de adenovírus: 4 (E)	-	<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>Cryptosporidium muris</i>	-	Norovírus GGI	-
Tipo de adenovírus: 5 (C)	-	<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Cryptosporidium parvum</i>	-	Norovírus GGII	-
Tipo de adenovírus: 7 ^a (B)	-	<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
Tipo de adenovírus: 11 (B)	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
Tipo de adenovírus: 31 (A)	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
Tipo de adenovírus: 37 (D)	-	<i>Clostridium bifermentans</i>	-	<i>Entamoeba histolytica</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium novyi</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> Portland 1	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>Clostridium septicum</i>	-	<i>Giardia intestinalis</i> WB Clone C6	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Giardia lamblia</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Clostridium sporogenes</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-

13.3 Reatividade analítica

A reatividade da PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II foi avaliada em relação a amostras de rotavírus, astrovírus e adenovírus caracterizados anteriormente positivos (consulte a Tab. 10). Todos os vírus testados foram detectados pelo teste PCR em tempo real multiplex RIDA®GENE Viral Stool Panel II ou por alinhamento de sequência (*).

Tab.11: Teste de reatividade analítica (número de amostras testadas)

Rotavírus					
Sorogrupo A					
Sorotipo G1	+	Sorotipo G2	+	Sorotipo G3	+
Sorotipo G4	+	Sorotipo G9	+	Sorotipo G12	+
Astrovírus					
Sorotipo 1*	+	Sorotipo 2	+	Sorotipo 3*	+
Sorotipo 4*	+	Sorotipo 5*	+	Sorotipo 7*	+
Sorotipo 8	+				
Adenovírus					
Sorotipo 40	+	Sorotipo 41	+		

14. Histórico de versões

Número da versão	Capítulo e designação
2019-04-05	Versão anterior
2020-12-16	Revisão geral 10. Controle de qualidade (erros ortográficos) 14. Histórico de versões 15. Explicação dos símbolos

15. Explicação dos símbolos

Símbolos gerais

	Para utilização em diagnóstico <i>in-vitro</i>
	Respeitar as instruções de utilização
	Número de lote
	Válido até
	Temperatura de conservação
	Referência do produto
	Número de testes
	Data de fabricação
	Fabricante

Símbolos específicos do teste

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

16. Literatura

1. Pang XL, *et al.* Increased Detection of Rotavirus Using a Real Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) Assay in Stool Specimens From Children With Diarrhea. *Journal of Medical Virology* 2004, 72: 496–501.
2. Heim A, *et al.* Rapid and Quantitative Detection of Human Adenovirus DNA by Real-Time PCR. *Journal of Medical Virology* 2003, 10: 228-239.
3. Kapoor A, *et al.* Multiple novel Astrovirus species in human stool. *Journal of general Virology* 2009, 90: 2965-2972.
4. Mead PS, *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerging Infectious Diseases* 1999, 5: 607-625.
5. Parashar UD, *et al.* Rotavirus and Severe Childhood Diarrhea. *Emerging Infectious Diseases* 2006, 12: 304-306.
6. Robert Koch Institut. Keratoconjunctivitis epidemica und andere Konjunktivitidendurch Adenoviren. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten – Merkblätter für Ärzte 2010.
7. Guix S, *et al.* Human astrovirus diagnosis and typing: current and future Prospects. *Letters of Applied Microbiology* 2005, 41:103-105
8. Robert Koch Institut. Rotaviren-Gastroenteritis. RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten. Stand 31.07.2013.
https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Rotaviren.html;jsessionid=D381EC22661EBE5C847628E9368E3401.2_cid381#doc2374564bodyText8. Aufgerufen am 09.07.2018.
9. Robinson CM, *et al.* Molecular evolution of human species D adenoviruses. *Infection, Genetics and Evolution* 2011, 11: 1208