



## RIDA<sup>®</sup> QUICK Norovirus

**REF** N1402



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



## **1. Uso previsto**

Para o diagnóstico *in vitro*. O teste RIDA®QUICK Norovirus é um teste rápido e qualitativo por imunocromatografia. Destina-se à identificação de norovírus do genogrupo 1 (GG I) e do genogrupo 2 (GG II) em amostras de fezes. Serve como auxílio no diagnóstico de gastroenterite e é usado para a análise de amostras de fezes de crianças e adultos com sintomas que sugerem uma gastroenterite causada por norovírus.

## **2. Sumário e explicação do teste**

Os norovírus são uma das principais causas de gastroenterite em todo o mundo com aprox. 23 milhões de casos anuais nos EUA (1, 2). Estão, muitas vezes, na origem de surtos epidémicos em centros comunitários, tais como lares de idosos, hospitais, infantários, prisões e navios de cruzeiro (3, 4, 5). Os surtos de norovírus são relatados com maior frequência que os surtos causados por bactérias e podem ter uma influência considerável sobre a saúde pública (6).

O teste RIDA®QUICK Norovirus à base de anticorpos monoclonais permite a detecção rápida e fiável de antígenos de norovírus em amostras de fezes e facilita, assim, um tratamento rápido dos pacientes. O teste rápido representa um método simples e sensível para detectar antígenos dos genogrupos de norovírus I e II. O seu uso é particularmente adequado para pequenas séries de amostras.

## **3. Princípio do teste**

O presente teste rápido é um teste de fluxo lateral imunocromático realizado num único estágio, que utiliza tanto anticorpos anti Norovírus biotinilados como marcados a ouro. Sempre que uma amostra seja positiva relativamente ao Norovírus, os anticorpos marcados anti Norovírus formam imunocomplexos, que passam, de seguida pela membrana. A estreptavidina existente na linha de teste T liga os imunocomplexos afluentes através da biotina acoplada ao anticorpo anti Norovírus, e causa, por consequência, uma coloração vermelha/roxa da linha T. Na linha de controlo C seguinte ligam-se os anticorpos de passagem sem complexo, marcados a ouro. Nas amostras negativas, por conseguinte, a ligação de imunocomplexos marcados a ouro não se realiza na linha T, mas apenas na linha C. A linha C vermelha indica sempre se a realização do teste foi válida.

#### 4. Reagentes fornecidos

Os reagentes de uma embalagem são suficientes para 25 doses

Cassette	25 doses	25 cartuchos de teste embalados individualmente
Reagent A	13,5 ml	Anticorpos anti-Norovírus específicos (rato); contém 0,05 % de azida, pronto a usar, de cor azul
Reagent B	13,5 ml	Anticorpos anti-Norovírus específicos (rato); contém 0,05 % azida, pronto a usar, de cor amarela
Pipet	25	Saco com 25 pipetas de uso único
Reagent vial	25	Saco com 25 tubos de Eppendorf
Pipet Tip	25	Saco com 25 pontas para pipeta
Microlit Pipet	1	Pipeta para um volume de 150 µl

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

#### 5. Instruções de armazenamento

A embalagem pode ser armazenada a 2 - 25 °C e deve ser usada até ao prazo de validade impresso. Após expirado o prazo de validade, não pode ser oferecida nenhuma garantia de qualidade. Da mesma forma, também a capacidade de uso dos cartuchos não pode ser garantida, se a embalagem dos mesmos se encontrar danificada.

#### 6. Reagentes necessários, mas não fornecidos

##### 6.1 Reagentes necessários

Não são necessários reagentes adicionais para realizar esse teste.

##### 6.2 Equipamento laboratorial necessário

Os seguintes equipamentos são necessários para realizar esse teste:

Equipamentos
Misturador vórtice (opcional)
Recipiente de descarte contendo solução de hipoclorito a 0,5 %

## 7. Avisos e medidas preventivas para os usuários

Apenas para uso 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. Sempre cumpra estritamente as instruções de usuário para a realização desse teste. Não pipete amostras ou reagentes com a boca. Evite o contato com membranas mucosas e pele lesionada. Utilize equipamentos de segurança pessoal (luvas adequadas, jaleco, óculos de segurança) ao manusear os reagentes e amostras e lave as mãos após concluir o teste. Não fume, coma ou beba em áreas onde as amostras estiverem sendo processadas.

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

Certifique-se de descartar de modo adequado e responsável todos os reagentes e materiais após sua utilização. Para o descarte, cumpra com os regulamentos nacionais.

Os reagentes contêm azida de sódio como conservante. Não se deve permitir que essa substância entre em contato com a pele ou com membranas mucosas.

Todos os reagentes e materiais que entram em contato com espécimes potencialmente infecciosas devem ser tratados com os desinfetantes adequados (por exemplo, hipoclorito de sódio) ou submetidos à autoclavagem a uma temperatura de 121 °C por pelo menos uma (1) hora.

## 8. Coleta e armazenamento de espécimes

As amostras de fezes devem ser colhidas em recipientes limpos sem aditivos e armazenadas antes do teste a 2 – 8 °C. No caso de uma amostra com mais de 3 dias, a amostra deve ser congelada a - 20 °C (Tabela 1). Neste caso, a amostra é descongelada totalmente antes do teste e exposta a temperatura ambiente. Deve-se evitar o congelamento e descongelamento repetido da amostra.

Caso sejam utilizadas colheitas anais, deve-se ter em atenção que o material de fezes deve estar disponível em quantidade suficiente (aprox. 50 mg), para realização do teste.

**Tab. 1:** Armazenagem de espécimes

Espécimes de fezes não diluídos	
2 a 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 dias	> 3 dias

## 9. Realização do teste

### 9.1 Disposições gerais

Todas as amostras, reagentes, assim como os cartuchos de teste, devem ser colocados a temperatura ambiente (20 - 25 °C), antes da sua utilização. Os cartuchos de teste só devem ser retirados da embalagem original, pouco antes da sua utilização. Os cartuchos de teste não devem ser utilizados mais do que uma vez. Deve ser evitada a luz direta do sol durante a realização do teste. O reagente restante não deve ser colocado novamente nos tubos de Eppendorf, dado que poderia causar uma contaminação.

### 9.2 Preparação prévia ao teste das amostras

Num tubo de Eppendorf **Reagent vial** marcado são introduzidos respetivamente **0,5 ml** do Reagente A **Reagent A** e Reagente B **Reagent B** com conta gotas. Dever-se-á respeitar rigorosamente a graduação de 0,5 ml e 1,0 ml do tubo Eppendorf. Os reagentes A e B **têm** de estar numa relação de 1 : 1.

#### 9.2.1 Utilização de amostras de fezes

No caso de uma amostra de fezes **liquida**, suspendem-se 50 µl (até à segunda espessura) com a pipeta de uso único **Pipet** na mistura de reagentes apresentada. Em caso de amostras de fezes **sólidas** são suspensos analogicamente aprox. 50 mg. De seguida, fecha-se hermeticamente o tubo de Eppendorf e a amostra é homogeneizada, por meio de mistura completa (opcionalmente no misturador Vórtex). Seguidamente a suspensão homogénea tem de sedimentar durante **5 minutos**, para que se forme um sobrenadante maioritariamente livre de partículas. Para a sedimentação, o tubo de Eppendorf pode ser colocado numa das três aberturas centrais do encaixe dos reagentes.

### 9.3 Teste das amostras

O cartucho de teste **Cassette**, retirado da embalagem individual, é depositado numa superfície plana. Em seguida, é colocada uma ponta de pipeta **Pipet Tip** não utilizada na pipeta **Microlit Pipet** e colhidos 150 µl do sobrenadante do respetivo tubo de Eppendorf e pipetado no campo de aplicação do cartucho de teste. Deve-se verificar que o líquido passe sem problemas pela membrana. Em caso de realização correta, a tira de controlo aparece após aprox. 3 minutos na linha de controlo C. Caso a linha de controlo não seja visível após 3 minutos, qualquer nova amostra deve apresentar um grau de sedimentação mais elevado (opcional, através de uma centrifugação de 2 minutos a 2000 g) e ser pipetada no campo de aplicação de um novo cartucho de teste.

O resultado do teste deve ser sempre lido após **15 minutos**. A coloração das bandas pode ser intensificada durante o período completo de reação, e pode-se alterar após a secagem da tira, de vermelho-rosa para azul até cinzento.

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

O teste só deve ser avaliado, se o cartucho de teste estiver intacto antes da pipetagem da suspensão das amostras, e o mesmo não apresentar alterações de cor ou tiras visíveis. Além disso, após o período de incubação de 15 minutos, deve ser pelo menos visível a tira de controlo vermelha/roxa. Se esta não parecer, verifique o seguinte antes de repetir o teste:

- Durabilidade dos cartuchos de teste e dos reagentes utilizados
- Realização correta do teste
- Contaminação dos reagentes

Se após a repetição do teste com um novo cartucho de teste a tira de controlo ainda não for visível, contacte o fabricante ou o seu distribuidor local R-Biopharm.

## 11. Avaliação e interpretação

Só podem aparecer duas tiras no máximo, vistas do campo de aplicação das amostras, na seguinte sequência: uma tira de reação vermelha/roxa na linha de teste T e uma tira de controlo vermelha/roxa na linha de controlo C. **Se faltar a tira de controlo, o teste não pode ser avaliado e torna-se inválido!**

São possíveis as seguintes interpretações:

- **Norovírus positivo:** ambas as tiras são visíveis.
- **Norovírus negativo:** apenas a tira de controlo é visível.
- **Inválido:** nenhuma tira visível ou configuração diferente da acima referida. Do mesmo modo, as colorações das tiras que só aparecem bastante mais tarde do que após 15 minutos não têm valor diagnóstico e não permitem avaliação.

## 12. Limitações do método

O RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus deteta especificamente os Norovírus GGI e GGII em amostras de fezes. Em relação entre a intensidade das tiras específicas visíveis e a ocorrência ou gravidade dos sintomas clínicos não pode, no entanto, ser deduzida.

**Os resultados alcançados devem ser sempre interpretados em conjunto com o quadro clínico.**

Um resultado **positivo** não exclui a presença de outros agentes patogénicos ou causas infecciosas.

Um resultado **negativo** não exclui uma possível infeção com Norovírus. Esta pode ter sido causada por uma eliminação intermitente do agente patogénico ou por quantidade insuficiente de antigénio na amostra. Se em termos anamnésicos existir suspeita fundamentada de infeção com o agente patogénico procurado, deve ser analisada uma amostra de fezes adicional do paciente.

Uma amostra de fezes em excesso pode causar uma coloração castanha da tira de teste, a qual acaba por cobrir a coloração vermelha/roxa da tira de teste específica. Nestes casos, é necessário fazer um novo teste com uma quantidade menor de fezes, ou uma suspensão de fezes mais apurada, através de centrifugação, a fim de verificar se o antigénio de Norovírus procurado se encontra na amostra, mas está encoberto pelo excesso de fezes na amostra.

## 13. Características de desempenho

### 13.1 Qualidade do teste

Num estudo de validação realizado num total de 75 amostras de fezes (amostras frescas e congeladas), através do RIDA®QUICK Norovirus mediu-se a PCR em tempo real (RT-PCR) para os genogrupos 1 e 2 do Norovírus. Os resultados são apresentados na tabela abaixo.

**Tab.2:** Avaliação da sensibilidade e especificidade do RIDA®QUICK Norovirus através da PCR em tempo real (RT-PCR).

		RIDA®QUICK Norovirus	
		+	-
RT-PCR	+	23	2
	-	1	49

Sensitividade : 92.0 %

Especificidade : 98.0 %

Pos. Valor Previsto: 95.8 %

Neg. Valor previsto: 96.0 %

### 13.2 Precisão

Para determinar a precisão do teste RIDA®QUICK Norovirus foram examinadas a reprodutibilidade intra-ensaio (10 repetições / 1 dia / 1 operador / 1 lote), a reprodutibilidade inter-dia (3 repetições / 10 dias / 1 operador / 1 lote), a reprodutibilidade inter-operador (3 réplicas / 1 dia / 3 operadores / 1 lote) e a reprodutibilidade de inter-lotes examinados (3 repetições / 1 dia / 1 operador / 3 lotes). Para cada exame foram medidas 5 referências em réplicas: uma negativa, duas fortemente positivas, duas medianamente positivas. Em 100% das medições o teste RIDA®QUICK Norovirus obteve o resultado esperado.

### 13.3 Reatividade cruzada

Vários germes patogénicos do trato intestinal foram examinados com o teste rápido RIDA®QUICK Norovirus e não revelaram atividade cruzada. Os exames foram realizados com suspensões de bactérias ( $10^7$  bis  $10^9$  ufc/ml), com culturas de parasitas ( $10^7$  até  $10^9$  organismos/ml), com sobrenadantes de culturas celulares infetadas com vírus e uma amostra de fezes. Os resultados constam da tabela , apresentada de seguida:



Germe de teste	Origem / fonte	Resultado
Adenovirus	Sobrenadante de cultura de células	negativo
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cultura	negativo
Astrovirus	Sobrenadante de cultura de células	negativo
<i>Bacillus cereus</i>	Cultura	negativo
<i>Bacteroides fragilis</i>	Cultura	negativo
<i>Campylobacter coli</i>	Cultura	negativo
<i>Campylobacter fetus</i>	Cultura	negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	Cultura	negativo
<i>Campylobacter lari</i>	Cultura	negativo
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Cultura	negativo
<i>Candida albicans</i>	Cultura	negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	Cultura	negativo
<i>Clostridium difficile</i>	Cultura	negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	Cultura	negativo
<i>Clostridium sordellii</i>	Cultura	negativo
<i>Clostridium sporogenes</i>	Cultura	negativo
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Cultura	negativo
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Cultura	negativo
<i>E. coli</i> (O6)	Cultura	negativo
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Cultura	negativo
<i>Entamoeba histolytica</i>	Cultura	negativo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Cultura	negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	Cultura	negativo
Giardia lamblia	Amostra de fezes	negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Cultura	negativo
<i>Proteus vulgaris</i>	Cultura	negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Cultura	negativo
Rotavirus	Sobrenadante de cultura de células	negativo
<i>Salmonella enteritidis</i>	Cultura	negativo
<i>Salmonella typhimurium</i>	Cultura	negativo
<i>Serratia liquefaciens</i>	Cultura	negativo
<i>Shigella flexneri</i>	Cultura	negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Cultura	negativo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cultura	negativo
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Cultura	negativo
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Cultura	negativo

#### 13.4 Substâncias de interferência

As substâncias que a seguir são designadas não mostraram qualquer efeito sobre os resultados dos testes, quando, nas concentrações apresentadas, foram misturadas com amostras de fezes positivas e negativas contaminadas por Norovírus:










Loperamida	5 % w/w	Sulfato de bário	5 % w/w
Pepto-Bismol	5 % v/w	Ciclamato	5 % v/w
sangue humano	5 % v/w		
Ácido esteárico / Ácido palmítico (1:1 mistura)	40 % w/w	Metronidazole 0.5	5 % v/w
Muzin	5 % w/w	Diclofenac	0.00263 % v/w

#### 14. Histórico de versões

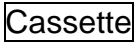
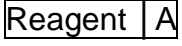
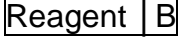

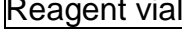
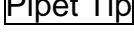
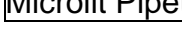
Número da versão	Capítulo e designação
2012-10-26	Versão anterior
2019-07-08	Revisão geral 4. Reagentes fornecidos 7. Avisos e medidas preventivas para os usuários 8. Coleta e armazenamento de espécimes

## 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

	Cartucho de teste
	Reagente A
	Reagente B
	Pipetas de uso único
	Tubo de Eppendorf
	Ponta para pipeta
	Pipeta para um volume de 150 µl

## 16. Literatura

1. Mead PS, et al. Food- related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:607-625.
2. Glass RJ, et al. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis* 2000; 181(Suppl 2):S254-261.
3. Kaplan JE, et al. An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116:940-948.
4. Johnston CP, et al. Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *CID* 2007; 45:534-540
5. Corwin AL, et al. Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6)898-903.
6. Evan HS, General outbreaks of infectious intestinal disease in England and Wales: 1995 and 1996. *Commun Dis Public Health* 1:165-171.
7. Chan MCW, et al. Fecal viral load and Norovirus associated gastroenteritis. *EID* 2006; 12: No. 8