



## INSTRUÇÕES DE USO

Somente para Uso diagnóstico in vitro

### RotaScreen - Latex

50 testes

Revisão: Agosto/2008

#### Finalidade ou Uso

RotaScreen é um teste de aglutinação de látex utilizado para detecção de Rotavírus em amostras fecais.

#### Introdução

Rotavírus é reconhecido como o maior causador de diarreia e gastroenterites, particularmente em crianças, podendo levar a sérias conseqüências como desidratação e desequilíbrio eletrolítico.

Devido ao fato de o Rotavírus não crescer em cultura de células, o diagnóstico era feito, até recentemente, pela detecção de partículas do vírus em amostras fecais utilizando-se microscopia eletrônica. Testes de aglutinação de látex e enzimáticos são, entre as técnicas atualmente disponíveis, as alternativas mais convenientes em relação à microscopia eletrônica.

Rotascreen é um teste de aglutinação de látex rápido e simples utilizado para detecção de Rotavírus em amostras fecais. O teste não requer equipamentos e os resultados podem ser obtidos em 5 minutos.

#### Princípio do Teste

Partículas de látex são recobertas com anticorpos de coelho contra um pool de diferentes isolados de Rotavírus, incluindo o humano.

Quando as partículas sensibilizadas de látex são misturadas com um extrato fecal contendo antígenos de Rotavírus, estes reagirão resultando em uma aglutinação visível.

Um Controle do Látex Reagente, sensibilizado com globulinas de coelho normais, vem incluindo para identificação de reações inespecíficas que podem ocorrer com algumas amostras fecais.

#### Apresentação do Kit

- Reagente de látex teste: Partículas de látex sensibilizadas com anticorpos (coelho) anti-Rotavírus. Conservante 0.1% Azida de sódio \_\_\_\_\_ 1 x 2.5ml

- Reagente de látex controle: Partículas de látex sensibilizadas com globulinas (coelho) normais . Conservante 0.1% Azida de sódio \_\_\_\_\_ 1 x 2.5ml

- Controle Positivo : Antígeno de Rotavírus bovino inativado em meio de cultura de células tamponado, com 0,1% de azida de sódio como conservante \_\_\_\_\_ 1 x 1,0 ml.

- Tampão de Extração: Tampão salina fosfato 0,05 mol/l, pH 7,2, contendo EDTA. Conservante 0.1% azida de sódio \_\_\_\_\_ 1 x 50ml

- Cartões de Teste descartáveis

- Misturadores descartáveis

#### Material necessário, mas não fornecido

- Centrifuga de laboratório

- Tubos com tampa

#### Advertências e Precauções

Os reativos deste kit são unicamente para uso diagnóstico vitro.

Não utilizar os reagentes após a data de validade

Não intercambiar reativos de lotes diferentes de kits.

O teste deve ser unicamente realizado de acordo com as instruções do kit.



Não pipetar amostras ou reagentes com a boca.

Todas as amostras clínicas devem ser consideradas infecciosas e manipuladas e descartadas de acordo com as práticas usuais.

O Controle positivo foi preparado com Rotavírus inativado. Entretanto, deve ser considerado como potencialmente infectante e manipulado com os mesmos cuidados que as amostras clínicas.

Os reagentes deste kit contêm 0.1% de azida de sódio como conservante, que pode reagir com chumbo e cobre que para formar azidas metálicas, altamente explosivas. Ao dispensar reativos na pia, utilizar grandes volumes de água para prevenir a formação de azidas.

### **Armazenamento e Estabilidade**

Armazenar à 2-8°C. Não congelar. Nestas condições os reagentes podem ser utilizados até a data de validade impressa na caixa.

### **Indicações de Deterioração**

Pode-se suspeitar de deterioração se:

- Houver evidência de agregação do Látex Teste ou Controle, não sendo removida por homogeneização suave
- O Controle positivo e o Tampão de Extração começar a turvar ou formar sedimento
- O Controle Positivo não causar aglutinação com o Látex Teste no tempo recomendado

Os reagentes que apresentarem sinais de deterioração não podem ser utilizados.

### **Armazenamento e Preparação das amostras**

As amostras fecais devem ser testadas logo após a coleta, porém, se necessário, podem ser armazenadas overnight a 2-8°C ou a -20°C por períodos mais longos.

Preparar uma suspensão com aproximadamente 10% de amostra fecal transferindo 0,1 ml (0,1g) da amostra em 1,0 ml de Tampão de Extração, em um tubo com tampa. Homogeneizar.

Deixar a temperatura ambiente por 1-2 minutos antes de realizar o teste.

### **Utilização do Controle Positivo**

O Controle Positivo deve ser testado regularmente para garantir o correto funcionamento dos reagentes. O Controle vem pronto para uso e deve ser testado no lugar do extrato da amostra no Procedimento do teste.

### **Procedimento**

1. Processar as amostras como descrito
2. Deixar os reagentes atingirem a temperatura ambiente.
3. Centrifugar o extrato de amostra a 1000g por 10 minutos
4. Pipetar 50 µl do sobrenadante em duas demarcações do Cartão de Teste
5. Adicionar 1 gota do Reagente Látex teste, bem homogeneizado, a uma das demarcações e 1 gota do Reagente Látex Controle à outra demarcação
6. Misturar o conteúdo de cada uma das demarcações utilizando um misturador separado para cada amostra, espalhando o conteúdo por toda a superfície.
7. Girar devagar o cartão e observar a presença de aglutinação dentro de 2 minutos.

### **Interpretação dos resultados**

a) Um resultado positivo é indicado pela aglutinação do Látex teste e a não aglutinação do Látex Controle

b) Um resultado é negativo se não ocorrer aglutinação nem no Látex teste nem no Látex Controle

Nota: a aglutinação no Reagente de Látex Controle indica uma reação inespecífica e que a amostra não pode ser utilizada por este método.

### **Limitações do Procedimento**

- Os resultados obtidos com RotaScreen devem ser avaliados em conjunto com outros dados clínicos
- Um teste positivo em RotaScreen não exclui a possibilidade de outras infecções microbianas



- RotaScreen é um teste de fase aguda. Amostras fecais colhidas após a fase aguda poderá conter uma concentração de antígeno abaixo do limite de sensibilidade do reagente.

### Características de desempenho

RotaScreen foi avaliado em três laboratórios de microbiologia no Reino Unido. Os resultados obtidos foram:

#### Laboratório 1

69 amostras de fezes foram testadas com RotaScreen, em paralelo com um teste EIA comercial

|       | RotaScreen<br>+ | RotaScreen<br>- | Total |
|-------|-----------------|-----------------|-------|
| EIA + | 36              | 1*              | 37    |
| EIA - | 0               | 0               | 32    |
| Total | 36              | 33              | 69    |

\* ME negativo

|                          |       |
|--------------------------|-------|
| Sensibilidade            | 97 %  |
| Especificidade           | 100 % |
| Valor preditivo positivo | 100 % |
| Valor preditivo negativo | 97 %  |

#### Laboratório 2

398 amostras de fezes foram testadas para presença de Rotavírus com o kit RotaScreen, microscopia eletrônica, eletroforese em gel de poliacrilamida (PAGE) RNA, e um EIA referência da WHO

| RotaScreen | ELISA | ME | PAGE | No. de amostras | % total de amostras |
|------------|-------|----|------|-----------------|---------------------|
| +          | +     | +  | +    | 161             | 40.25               |
| +          | +     | +  | -    | 18              | 4.5                 |
| -          | +     | +  | +    | 8               | 2.0                 |
| +          | +     | -  | +    | 22              | 5.5                 |
| -          | +     | -  | +    | 3               | 0.75                |
| -          | +     | +  | -    | 7               | 1.75                |
| +          | +     | -  | -    | 62              | 15.5                |
| -          | +     | -  | -    | 22              | 5.5                 |
| -          | -     | -  | -    | 95              | 23.75               |

Se um resultado verdadeiro para Rotavírus é definido como uma amostra que é positiva por dois ou mais métodos, o desempenho dos diferentes ensaios pode assim ser resumido:

|                          | RotaScreen | EIA  | ME   | PAGE |
|--------------------------|------------|------|------|------|
| Sensibilidade            | 93%        | 100% | 69%  | 69%  |
| Especificidade           | 100%       | 81%  | 100% | 100% |
| Valor preditivo positivo | 100%       | 93%  | 100% | 100% |
| Valor preditivo negativo | 87%        | 100% | 57%  | 57%  |

#### Laboratório 3

278 amostras de fezes forma caracterizadas pela microscopia eletrônica, enzimmunoensaio e marcação PAGE RNA. Foram considerados verdadeiros positivos, as amostras positivas por um ou mais métodos. Os verdadeiros negativos foram os que deram negativo em todos os testes.



As amostras caracterizadas foram então testadas com RotaScreen em paralelo com 2 outros testes de látex em lâmina disponíveis no mercado. Os resultados estão resumidos abaixo:

|  | RotaScreen | Látex 1 | Látex 2 |
|--|------------|---------|---------|
| Sensibilidade  | 91%        | 87%     | 76%     |
| Especificidade   | 97%        | 94%     | 86%     |
| % de amostras com aglutinação nos látex controle e teste | 1%         | 1%      | 14%     |
| Valor preditivo positivo*                                | 98%        | 98%     | 99%     |
| Valor preditivo negativo*                                | 95%        | 95%     | 92%     |

\* Nota: amostras que deram aglutinação nos dois Látex Teste e Controle foram excluídas do cálculo dos Valores Preditivos.

### Referências

1. Askaa J and Bloch B (1981). Detection of porcine Rotavirus by EM, ELISA and CIET. Acta vet scand 22,32-38
2. Brandt CD et al (1983). Paediatric viral gastroenteritis during 8 years of study. J. Clin. Microbiol, 18, 71-78
3. Ellis ME et al. (1984). Contemporary gastroenteritis of infancy: clinical features and prehospital management. Brit. Med. J. 288, 521-523
4. Flewett TH, and Woode GW (1978). The Rotaviruses. Arch Virol 57, 1-23.
5. Haikala OJ et al (1983)
6. Rapid detection of Rotavirus in stool by latex agglutination: comparison with radioimmunoassay and electron microscopy and clinical evaluation of the test. J. Med. Virol., 11, 910-97
7. Sanders RC et al (1986). Routine detection of human Rotavirus by latex agglutination: comparison with enzyme-linked immunosorbent assay, electron microscopy and polyacrylamide gel electrophoresis. J. Virol. Methods 13, 285-290
8. Sanekata T and Okada H (1983). Human Rotavirus detection by agglutination of antibody-coated erythrocytes. J. Clin. Microbiol, 17, 1141-1147
9. Sanekata T et al (1981)
10. Detection of Rotavirus in faeces by latex agglutination. J. Imm Mets 41, 377-385
11. Schusser G et al (1982)
12. A follow-up study on bovine Rotavirus dissemination among of a large dairy herd. Microbiologica 5, 321-332.

---

**Data de vencimento, No. de Lote, No. de Registro do**  
**Ministério da Saúde e Responsável Técnico:** VIDE EMBALAGEM  
**Produzido por:** Microgen Bioproducts Limited, 1 Admiralty Way, Camberley – Surrey, Reino Unido  
**Importado e distribuído por:** Medivax Indústria e Comércio Ltda  
Av Venezuela 3, sala 303 Rio de Janeiro/RJ - CNPJ: 68.814.961-0001-73

---

**Atendimento ao consumidor Tel: (0xx21) 2283-2833**

---

---

**Representante Legal**  
**Ricardo Weizman**

---

**Responsável Técnico**  
**Luciana Poli Fernandes**  
**CRBio- 2 no 21.140/0**