



FINALIDADE DE USO

O rotavírus é o agente primário causador de gastroenterite aguda, especialmente em crianças com menos de 2 anos de idade. Sua descoberta em 1973 e sua associação com a gastroenterite infantil representaram um avanço muito importante no estudo de gastroenterites não causadas por infecção bacteriana aguda. O rotavírus é transmitido pelo contato oral-fecal com um período de incubação de 1 a 3 dias. Embora as amostras coletadas entre o segundo e o quinto dia da doença sejam as ideais para a detecção do antígeno, o rotavírus pode também ser encontrado enquanto ocorrer diarreia.

O adenovírus é a segunda causa de gastroenterites viral em crianças (10% – 15%) e além disso pode causar doenças respiratórias e dependendo do sorotipo, diarreia, conjuntivite, cistite e outras. Tem-se identificado ao menos 47 sorotipos de adenovírus e em todos estão presentes o antígeno hexon. Os sorotipos 40 e 41 são associados com gastroenterites.

O principal sintoma clínico da gastroenterite devido a adenovírus é a diarreia, entre 9 e 12 dias, aparecendo também febre e vômitos.

PRINCÍPIO

O Rota-Adenovírus One Step Teste utiliza anticorpos monoclonais contra antígeno VP6 do grupo A do Rotavírus conjugado a partículas de látex vermelhas e anticorpos monoclonais específicos fixados na membrana do teste. Utiliza também anticorpos monoclonais contra antígeno Hexon de Adenovírus (presente em todos os subtipos de Adenovírus) conjugados a partículas de látex azuis e anticorpos monoclonais específicos para adenovírus fixada na membrana do teste.

Neste teste, a amostra é antes tratada com uma solução de extração (Tampão de Extração) para extrair o rotavírus e ou adenovírus das fezes. Seguindo a extração, o único passo necessário é adicionar o extrato na cavidade da amostra para dispositivo ou mergulhar a extremidade absorvente da tira no extrato.

Como a amostra migra através da membrana teste, as partículas de látex vermelho conjugadas com anticorpos anti rotavírus e ou as partículas azuis conjugadas com os anticorpos anti adenovírus se ligam aos antígenos rotavírus e ou antígenos adenovírus formando um complexo antígeno-anticorpo. Este complexo se liga aos anticorpos rotavírus e ou anticorpos anti adenovírus imobilizados e produz uma faixa vermelha e ou uma faixa azul

se a amostra contiver o rotavírus e ou adenovírus. A mistura da reação continua migrando pela membrana para a área do controle produzindo uma faixa de cor verde.

MATERIAIS FORNECIDOS

- O kit contém materiais necessários para realizar 1, 20, 35 ou 50 testes:

Para dispositivos:

- Rota-Adeno: 1, 20, 35 ou 50 testes;
- Frascos de coleta de fezes contendo Tampão de Extração: 1, 20, 35 ou 50 testes;

Para tiras:

- Rota - Adeno: 1, 20, 35 ou 50 testes;
- Frasco contendo 1.5, 30, 52.5 ou 75 ml de - Tampão de Extração;

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS

- Cronômetro ou relógio;
- Coletor de fezes;
- Tubos de ensaios (para tira);
- Swab (para tira).

ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

O teste é estável se for armazenado em temperatura entre 2° e 30°C até a data de validade impressa no envelope de cada dispositivo/tira.

PRECAUÇÕES

- Somente para uso diagnóstico in vitro;
- Não utilizar o teste após a data de validade;
- Não utilizar o teste se tiver qualquer faixa colorida na janela do resultado antes de realizar o teste;
- O teste não funcionará corretamente se a quantidade de amostra for grande ou pequena demais, portanto as quantidades adequadas são: 30 – 50 mg se as fezes forem sólidas e menos que 100 µl de fezes líquidas. E destas tomar 4 a 5 gotas de suspensão;
- Todas as amostras devem ser manuseadas como se fossem potencialmente infecciosas;
- Descartar todos os materiais utilizados em um recipiente adequado para materiais de biorrisco;
- O tampão de extração contém azida de sódio como conservante. Evite contato com a pele;

AMOSTRA

As amostras devem ser coletadas assim que os sintomas aparecerem. O número de partículas virais diminui após 8 dias, tornando o diagnóstico mais difícil.

As amostras podem ser estocadas no refrigerador durante 1 ou 2 dias. Para estocar por períodos mais prolongados, elas devem ser mantidas congeladas a -20°C.

Neste caso, a amostra deve ser totalmente descongelada e atingir a temperatura ambiente e homogeneizada antes do teste.

PROCEDIMENTO

Para dispositivos:

1. Desenrosque a tampa do tubo de coleta segurando o tubo verticalmente, sem respingar o tampão de extração. Coleta a amostra por imersão do aplicador nas fezes (se sólidas) e certifique-se que a amostra foi impregnada adequadamente na superfície do palito (entre 30 e 50 mg), e 100 µl se amostra estiver líquida;
2. Recoloque o aplicador com as fezes no tubo e enrosque bem a tampa. Agite o tubo de coleta completamente para garantir a mistura adequada;
3. Retire o dispositivo de reação (Rota – Adeno) de sua embalagem selada. Descarte o dessecante já que ele não é necessário para a realização do teste;
4. Segure o tubo de coleta e quebre a extremidade;
5. Dispense exatamente 4 gotas na cavidade inferior no final do dispositivo. Cuidado para não adicionar as partículas sólidas com o líquido. Se o teste não correr por causa da adição das partículas sólidas, retire as partículas até que o líquido possa correr através da área de reação;
6. Fazer a leitura dos resultados entre 5 a 10 minutos.

Para tiras:

1. Tome um tubo de ensaio para cada amostra. Adicione 1 a 1,5 ml de Tampão de Extração;
2. A seguir, tome uma pequena quantidade de fezes (entre 30 e 50 mg) e ressuspensa no Tampão de Extração. Se utilizar um swab, mergulhe – o no tampão e pressione a cabeça do swab contra a parede do tubo girando – o. Se as fezes forem líquidas pipetar 100 µl da amostra;
3. Agite vigorosamente para que forme uma suspensão da amostra no Tampão;
4. Aguarde pelo menos 3 minutos para que as partículas sólidas depositem no fundo do tubo. Transfira o sobrenadante para um segundo tubo;
5. Retire a tira de reação (Rota – Adeno) de sua embalagem selada. Descarte o dessecante já que ele não é necessário para a realização do teste;
6. Introduza as tiras no sobrenadante do segundo tubo, mergulhando somente até a ponta da seta. **IMPORTANTE:** nunca deixe o líquido alcançar a zona onde estão as setas;
7. Fazer a leitura dos resultados entre 5 a 10 minutos.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

(Dispositivo/Tira)

Interpretar os resultados em 5 minutos. Qualquer resultado obtido após 10 minutos não tem valor diagnóstico.

NEGATIVO

Apenas a linha **VERDE** (faixa do controle) aparece na região de resultado. No dispositivo a faixa controle aparece na região marcada por "C".

POSITIVO

Rotavírus

O resultado do teste é positivo se duas faixas forem visíveis, uma faixa **VERMELHA** (positiva) na região marcada "T2" e uma faixa **VERDE** na região marcada por "C", para os dispositivos. A intensidade da cor pode variar segundo a concentração do antígeno presente e a tonalidade da cor vermelha podendo variar conforme os componentes do extrato de fezes passando da cor vermelha até uma mistura de cor vermelha com a cor marrom.

Adenovírus

O resultado do teste é positivo se duas faixas forem visíveis, uma faixa **AZUL** (positiva) na região marcada "T1" e uma faixa **VERDE** na região marcada por "C" para os dispositivos. A intensidade da cor pode variar segundo a concentração do antígeno presente e a tonalidade da cor azul podendo variar conforme os componentes do extrato de fezes passando da cor azul até uma mistura da cor azul com a cor marrom.

Rotavírus/Adenovírus

O resultado do teste é positivo se tres faixas forem visíveis, uma faixa **AZUL** (positiva) na região "T1", uma faixa **VERMELHA** (positiva) na região marcada "T2" e uma faixa **VERDE** na região marcada por "C" para os dispositivos e a tonalidade da cor azul e da cor vermelha podendo variar conforme os componentes dos extratos.

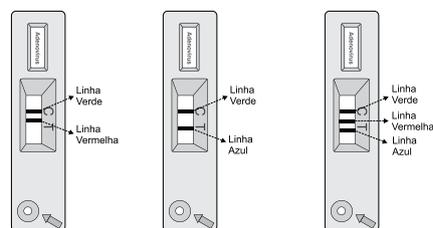
E as mesmas faixas aparecem para os teste em tiras. A intensidade da cor pode variar segundo a concentração do antígeno presente.

INVÁLIDO

Se não aparecer a faixa **VERDE** na região "C", o teste será inválido. A amostra deve ser reanalisada usando-se um novo dispositivo/tira de reação.

Toda linha que aparecer após 10 minutos não terá valor diagnóstico.

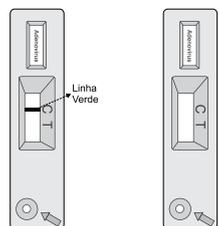
Figuras: Dispositivo e Tiras



Positivo
Rotavírus

Positivo
Adenovírus

Positivo
Rotavírus
Adenovírus



Negativo

Inválido

Obs.: A intensidade de cor das linhas pode ser variável.

O diagnóstico final não deve ser baseado somente no resultado de um teste. Deverá se fundamentar na correlação dos resultados do teste com outros dados adequados e com a sintomatologia clínica.

CONTROLE DE QUALIDADE

A faixa controle **VERDE**, serve como controle interno, uma vez quando este não é visualizado o teste não é válido, indicando que o procedimento não foi realizado corretamente ou que os reativos estavam deteriorados. Neste caso, repetir o teste seguindo corretamente o procedimento. Recomenda-se a inclusão de um controle com resultado conhecido para assegurar que os dados obtidos são corretos.

LIMITAÇÕES DO TESTE

O teste deve ser utilizado apenas para a detecção do antígeno rotavírus e adenovírus em amostras fecais.

O teste é qualitativo e não deve ter nenhuma interpretação quantitativa do resultado em relação direta da intensidade da linha positiva.

Mais de 200 amostras foram analisadas para garantir o desempenho correto do teste. A correlação do teste com outra técnica (EIE) foi excelente. Entretanto, as interferências no desempenho dos testes não devem ser excluídas.

Um excesso de amostra fecal pode causar o aparecimento de linhas marrons ao invés de linhas vermelha e azul. Esta linha marrom não tem valor diagnóstico. Neste caso repetir o teste com uma quantidade menor de amostra ou diluir o extrato já pronto.

Não foram observadas reações cruzadas com outros vírus ou substâncias durante a avaliação do teste. Um resultado negativo não exclui totalmente uma possível infecção por rotavírus. O significado dos resultados

deve ser avaliado em relação aos sintomas clínicos do paciente.

A análise de algumas amostras pode dar linhas com cores indefinidas, causados na maioria dos casos por amostras negativas. Quando aparecerem estas linhas de coloração indefinidas deve repetir o teste. No caso de obter o mesmo resultado sugere realizar análise com outro método analítico.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Sensibilidade

A partir de diversos ensaios com vários observadores em diferentes condições e com lotes distintos foi estabelecida uma sensibilidade típica de 31 ng/ml de rotavírus e 31 ng/ml de adenovírus. Quando a leitura do teste foi realizada aos 10 minutos detectou-se 8 ng/ml para rotavírus e 4 ng/ml para adenovírus.

Sensibilidade e Especificidade Diagnóstica

Rota-Adenovírus One Step Teste foi avaliado frente a EIE (Enzima Imuno Ensaio) para detecção de antígenos de Rotavírus e frente a um outro EIE para detecção de antígenos de Adenovírus.

Os resultados obtidos foram: Rotavírus

		Rota-Adenovírus One Step Teste	
		+	-
EIE	+	12	0
	-	2	88
Porcentagem da Concordância		100%[(12+88)/102] = 98.4%	
Concordância da Sensibilidade Estimada		100%[(12)/(12+2)] = 85.71%	
Concordância da Especificidade Estimada		100%[(88)/(0+88)] = 99.9%	

Adenovírus

		Rota-Adenovírus One Step Teste	
		+	-
EIE	+	6	0
	-	6	96
Porcentagem da Concordância		100%[(6+96)/102] = 98.4%	
Concordância da Sensibilidade Estimada		100%[(6)/(6+0)] = 99.9%	
Concordância da Especificidade Estimada		100%[(96)/(0+96)] => 99.9%	

EFEITO HOOK

Foi testada uma concentração de 2000 ng/ml Rota + 2000 ng/ml Adeno. O limite de detecção do teste é 31 ng/ml Rota + 31 ng/ml Adeno. Esta quantidade é 65 vezes maior ao limite do teste. Não foi observado o efeito HOOK nessa concentração.

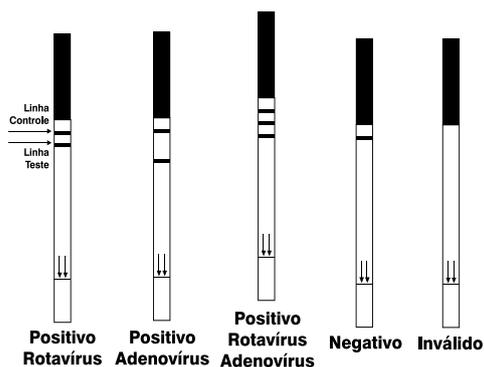
SUBSTANCIAS INTERFERENTES

As substâncias descritas na tabela abaixo, e nas concentrações indicadas não interferiram nos resultados. Foram utilizados 3 lotes para realizar este estudo:

Bilirrubina F: 0.9 – 1.1 mg/ml	Atropina (40 mg/ml)
Bilirrubina C: 0.9 – 1.1 mg/ml	Cafeína (40 mg/ml)
Hemoglobina: 22 – 27 mg/ml	Acido gentísico (40 mg/ml)
Acetamidofeno (20 mg/ml)	Glicose (2000 mg/ml)
Acido Acetilsalicílico (20 mg/ml)	Uréia (4000 mg/ml)
Ampicilina (40 mg/ml)	Acido Úrico (10 mg/ml)
Acido Ascórbico (100 mg/ml)	

MICROORGANISMOS INTERFERENTES

Os microorganismos descritos na tabela



abaixo, e nas concentrações indicadas não interferiram nos resultados:

Bactérias: concentração (McF: 5(1x10E8/ml))

E.coli	Strep. Grupo G	H. influenzae
K. pneumoniae	S. agalactiae	C. albicans
E. faecalis	S. mutans	B. catarrhalis
S. aureus	S. pneumoniae	B. pertussis
S. epidermidis	S. marcescens	P. vulgaris
S. haemolyticus	P. aeruginosa	S. saprophyticus
Strep. Grupo B	N. gonorrhoeae	S. milleri
Strep. Grupo C		E. faecium

Vírus – 1

Vírus	Subtipo	Conc. final (TCID ₅₀ /ml)
Influenza tipo A	H1N1	1.4x10 ⁶
Influenza tipo A	H3N2	3.0x10 ⁶
Influenza tipo B	Vitoria	1.6x10 ⁶
Influenza tipo B	Yamagata	1.5x10 ⁷

Vírus – 2

Vírus	Subtipo	Conc. final (TCID ₅₀ /ml)
Echovirus	6	7.2 x10 ⁵
Poliovirus	2	2.2 x10 ⁷
Parainfluenza	2	2.2 x10 ⁷

GARANTIA DA QUALIDADE

A Alamar Tecno Científica Ltda obedecendo ao que estabelece o código de Defesa do Consumidor e portanto para que o produto apresente o seu melhor desempenho estabelece que:

1. O usuário leia e siga rigorosamente o procedimento técnico;
2. Os materiais estejam armazenados em condições indicadas;
3. Os acessórios necessários estejam de acordo com o solicitado.

Antes de ser liberado para venda cada lote

é testado e aprovado, sendo uma amostra retida para referencia futura e controle de qualidade. Portanto havendo necessidade de alguma informação sobre o lote em questão, o Controle de qualidade está à disposição. E quaisquer problemas que venham ocorrer por falha da empresa, serão resolvidos sem ônus para o cliente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. F. Bom et al. Prevalence of a group A rotavirus, human calicivirus, astrovirus, and adenovirus type 40 and 41 infection among children with acute gastroenteritis in Dijon, France Journal of Clinical Microbiology, Sept. 1999, p. 3055 – 3058;
2. Bodo R. Eing et al. Evaluation of two enzyme immunoassays for detection of human rotaviruses in fecal specimens, Journal of Clinical Microbiology, dec. 2001, p. 4532 – 4534;
3. Umesh D. Parashar et al. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children, Emerging Infectious Diseases, vol. 9, Nº. 5, May 2003, p. 565-572.



Alamar Tecno Científica Ltda

Rua Emir Macedo Nogueira, 179 – J. Potinari
Diadema - São Paulo - Brasil - CNPJ 48.044.358/0001-42
Sac: (11) 5564-9500
ANVISA: 80049120088
Ed. 06/2025