

**ImmunoCard**  
**STAT**  **NOROVIRUS**

REF 757020

IVD

ENGLISH p. 1

RAPID IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF NOROVIRUS ANTIGENS  
IN HUMAN STOOL

ITALIANO p. 6

TEST RAPIDO IMMUNOLOGICO PER LA RICERCA DI ANTIGENI DI NOROVIRUS  
IN CAMPIONI FECALI UMANI

FRANÇAIS p. 11

TEST IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE RAPIDE POUR LA DÉTECTION DES  
ANTIGÈNES DE NOROVIRUS DANS LES SELLES HUMAINES

ESPAÑOL p. 17

INMUNOENSAYO RÁPIDO PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE  
NOROVIRUS EN HECES HUMANAS

DEUTSCH p. 23

SCHNELLES IMMUNOASSAY ZUM NACHWEIS VON NOROVIRUS-ANTIGENEN  
IM MENSCHLICHEN STUHL





# ImmunoCard STAT! NOROVIRUS

**REF** Catalogue Number 757020

**IVD** *In Vitro* Diagnostic Medical Device

## RAPID IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF NOROVIRUS ANTIGENS IN HUMAN STOOL

### INTENDED USE

The ImmunoCard STAT! Norovirus Immunoassay is a rapid *in vitro* qualitative test for the detection of Norovirus antigens in human stool. The test results are intended to aid in the diagnosis of Norovirus associated gastroenteritis.

### SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Noroviruses are a major cause of acute gastroenteritis, they are involved in outbreaks in closed and crowded environments, such as schools, hospitals, nursing homes and cruise ships<sup>1,2,3</sup>. In children Noroviruses are the second most common cause of gastroenteritis after Rotavirus<sup>4</sup>. Typically, people with Norovirus infection develop diarrhoea and abdominal pain and begin to vomit within 24 to 48 hours of exposure. Norovirus symptoms last one or two days, and most people recover completely without treatment. However, in some people especially infants, older adults and people with underlying disease, vomiting and diarrhoea can be severely dehydrating and require medical attention. Noroviruses are highly contagious, commonly spread through food or water contaminated by faecal matter. The infection can also be acquired through close contact with an infected person. Gastroenteritis outbreaks caused by Norovirus are more frequent than outbreaks due to bacterial pathogens, can be difficult to control and long-lasting because Norovirus is easily transmitted due to the low infectious dose and persistent in the environment resisting disinfection and chlorination. Based on their capsid gene (VP1) sequence, human Norovirus strains can be grouped into two genogroups (GI and GII)<sup>5</sup>.

### BIOLOGICAL PRINCIPLES

The ImmunoCard STAT! Norovirus assay detects the presence of Norovirus antigens in stool. Patient specimen collected with the provided swab is diluted in the Sample Diluent Tube. The suspension is mixed and 3 drops are added to the sample port of the device. The sample mobilizes latex particles (blue) coated with anti-NV-GI (Norovirus Genogroup I) and anti-NV-GII (Norovirus Genogroup II) monoclonal antibodies and migrates along the membrane through the **Test** [immobilized anti-NV-GI, anti-NV-GII and anti-NV (reacting with both GI and GII) monoclonal antibodies] and **Control** (immobilized rabbit anti-mouse immunoglobulin) lines. After 15 minutes, the **Test** and **Control** zones are observed for the presence of blue lines across the membrane surface. If Norovirus is present in the sample, it forms a complex with the capture antibody and the monoclonal antibodies-latex conjugate which can be seen visually as a blue line in the **Test** zone. No blue line in the **Test** zone indicates a negative result. The **Control** line serves as a procedural control to assure that the sample has migrated the appropriate distance along the membrane and the test has worked properly.

### REAGENTS/MATERIALS PROVIDED

1. **Test Cards:** individually foil pouched devices containing immobilized anti-NV-GI (Genogroup I), anti-NV-GII (Genogroup II) and anti-NV (Genogroup I and II) monoclonal antibodies (**Test** zone), immobilized rabbit anti-mouse immunoglobulin (**Control** zone) and embedded anti-NV-GI and anti-NV-GII monoclonal antibodies conjugated to latex particles.
2. **Sample Diluent/Negative Control Tubes:** buffer solution containing surfactant and 0.08% sodium azide as a preservative (400 µl/tube).
3. **Swabs:** cotton/rayon unsterilized applicator sticks for stool collection.
4. **Dropper Caps with Filter:** plastic caps with dropper and integrated filter for sample filtration and dispensing  
The maximum number of tests obtained from this kit is listed on the outer box.

### MATERIALS NOT PROVIDED

1. **Positive Control** (Meridian Catalogue # 757001, 1 swab): cotton/rayon swab with recombinant non infectious Norovirus antigens.
2. **Timer**

## PRECAUTIONS

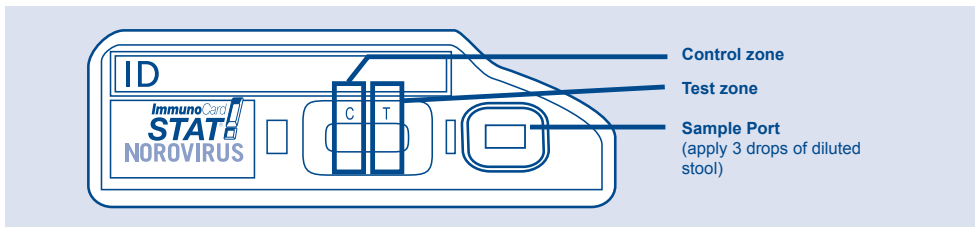
1. All reagents are for *in vitro* diagnostic use only and are ready to use.
2. Reagent concentration, incubation times and temperatures (15-30°C) have been optimized for sensitivity and specificity. Best results are obtained by adhering to these specifications. Once the assay has been started, complete all subsequent steps without interruption.
3. Stool samples must be mixed thoroughly to ensure a representative sample prior to sampling. Do not use stools that have dried out.
4. For faecal sample collection be sure to use the cotton/rayon swabs provided within the ImmunoCard STAT Norovirus kit. These swabs have been specifically designed for stool collection and use with this kit. Do not use these swabs for any other application. Use the swab to collect stool excreted from the body. Do not use rectal swabs with this test.
5. Dilution of stool as described is important. Over-inoculation of stool into the Sample Diluent may cause clogging of the filter in the Dropper Cap and not allow the sample application to the Test Card. Excessive amount of collected sample may restrict movement within the Test Card so as to produce an invalid result. If clogging of the filter in the Dropper Cap or clogging of the membrane in the Test Card occurs, start over from specimen collection in a new Sample Diluent Tube and be sure to collect the indicated amount of specimen.
6. After adding the stool to the Sample Diluent Tube attach the Dropper cap firmly and test immediately without delay.
7. Dark stools may colour the Test Card membrane and make results difficult to read.
8. Patient specimens and used ImmunoCard STAT! Norovirus Test Cards may contain infectious agents and should be handled and disposed of as potentially biohazardous.
9. Store kits components at 2-30°C, avoid exposure to direct sunlight. Do not freeze.
10. Do not use the kit after its expiration date. Do not interchange reagents from different kit lot numbers.
11. Allow kit components and specimens to reach the room temperature (15-30°C) before performing a test, as cold reagents and/or specimens may decrease assay sensitivity. Reagents may take 20-30 minutes to warm following refrigeration.
12. Before performing the test verify that there is no damage or abnormality with the Swabs, Test Cards, Sample Diluent Tubes, Dropper Caps with Filter. Do not use if they are damaged.
13. If the Sample Diluent shows air bubbles at the bottom of the tube, tap the tube on a bench to eliminate them before removing the aluminium sticker.
14. When applying the specimen to the Test Card hold the Sample Diluent Tube vertically to insure proper drop size delivery.
15. Test instructions should be thoroughly read before performing any testing.

## SHELF LIFE AND STORAGE

The expiration date is indicated on the kit label. The kit components must be used before the expiration date. Store the kit at 2-30°C.

## PROCEDURAL NOTES

1. The ImmunoCard STAT! Norovirus Test Card is shown in the diagram below.
2. Batch processing of samples is possible provided correct incubation time is maintained for each device.
3. The **Control** zone of each device is a procedural control to test for proper specimen and reagent flow characteristics as well as reagent performance.



## REAGENT PREPARATION

1. All reagents are ready to use (no further dilution is required).
2. When the kit is stored in a refrigerator, allow kit components to reach room temperature (15-30°C) prior to use.
3. After removing the Test Card from its pouch or removing the aluminium sticker from the Sample Diluent Tube use them immediately.
4. Depending on the number of specimens to be tested, prepare the appropriate number of Swabs needed to collect the specimens, Sample Diluent Tubes, Dropper Caps with Filter and Test Cards.

## SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

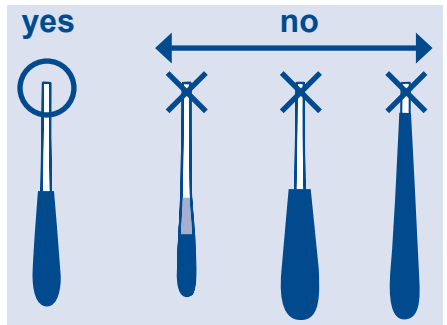
For the best results, specimens should be collected as soon as possible after onset of symptoms, Norovirus concentration in stool peaks at 1-4 days after the onset of the symptoms. DO NOT USE stool in transport media or preservatives. Stool specimens may be collected by the method routinely utilized by the laboratory, providing no dilution of the specimen occurs. The sample may be collected into a clean, empty container. The specimen should be tested as soon as possible after collection, but may be stored up to 24 hours at 2-8°C prior to testing. If testing cannot be performed within this time frame, specimen should be frozen in a non-defrosting freezer (-20°C or lower) until tested.

## TEST PROCEDURE

*This test should be performed by qualified personnel per applicable local regulatory requirements.*

**Note: All components must be at 15-30°C prior to use.**

1. Remove the aluminium seal from the Sample Diluent Tube.
2. Sample Dilution: collect the stool specimen with the Swab supplied with the kit as illustrated in the diagram below. Swabs from other suppliers have not been validated.
  - **Watery stool:** collect thoroughly soaking the swab to cover the entire cotton/rayon surface.
  - **Solid or Loose stool:** collect an amount to lightly cover the cotton/rayon swab surface and rotate the swab few times.
  - The stool should be absorbed by the cotton/rayon swab as in the diagram.



3. Immediately place the swab into the Sample Diluent Tube.
4. Vigorously mix the solution by rotating the swab against the side of the Sample Diluent Tube.
5. Release as much liquid as possible from the swab by squeezing the sides of the tube as the swab is withdrawn. Discard the swab.
6. Firmly attach the Dropper Cap with Filter to the Sample Diluent Tube.
7. Remove the Test Card from the pouch. Label appropriately. Use one card per sample or control.
8. Turn the tube upside down and dispense 3 drops of diluted specimen to **Sample** port (indicated by an arrow) of the Test Card.
9. Incubate 15 minutes at 15-30°C.  
**NOTE:** During the 15 minutes incubation, diluted specimen must move past the **Control** zone.
10. At the end of the incubation period immediately read **Control** and **Test** zones for the presence or absence of a blue line.

## EXTERNAL CONTROL TESTS

**Positive Control Swab** (Meridian Catalogue # 757001) and **Sample Diluent/Negative Control** are intended for external quality control testing as reported in the section QUALITY CONTROL.

**Positive Control Test:** after removing the Positive Control Swab from the pouch immediately place it into a Sample Diluent Tube. Continue as you would for a patient sample, as instructed at point 4 of the TEST PROCEDURE section.

**Negative Control Test:** remove the aluminium seal from a Sample Diluent Tube. Continue as you would for a patient sample, as instructed at point 6 of the TEST PROCEDURE section.

The Positive Control should yield visually detectable blue **Test** and blue **Control** lines.

The Negative Control should yield a visually detectable blue **Control** line. No **Test** line should be present.

## INTERPRETATION OF RESULTS



**Positive Test Result:** visually detectable blue **Test** and **Control** lines. The color of the Test line may vary from weak to strong blue. A positive result indicates the presence of Norovirus antigens.

**Negative Test Result:** visually detectable blue **Control** line. No **Test** line present. A negative result indicates that Norovirus antigens are absent or below the level of detection.

**Invalid Test Result:** no visually detectable blue **Control** line, with or without a visually detectable blue **Test** line.

Invalid test results may be due to a Reagent/Card problem, a procedural error, or over-inoculation of stool into Sample Diluent during specimen dilution. Re-dilute stool and repeat test.

## QUALITY CONTROL

At the time of each use, kit components should be visually examined for obvious signs of microbial contamination, freezing or leakage. Do not use contaminated or deteriorated reagents.

### 1. Internal Control

An internal procedural control is included within each Test Card and is therefore evaluated with each test. A blue Control line serves as an internal procedural control and indicates the test has been performed correctly, that proper flow occurred and the test reagents were reactive at the time of use.

### 2. External Controls

External controls (Positive and Negative) are intended to monitor reagents reactivity and should be tested according to the requirements of the laboratory or those of applicable local, state or national accrediting agencies. To this purpose the use of Positive Control (Meridian Catalogue # 757001) and Negative Control (Sample Diluent Tube) is recommended. The Positive and Negative Controls are best tested upon receipt of the kit. Thereafter, the procedural control, performed with each test, is sufficient to verify reagent integrity and assay reactivity.

Failure of the controls to produce the expected results can mean that one of the reagents or components is no longer reactive at the time of use, the test was not performed correctly or that reagents or samples were not added. See section EXTERNAL CONTROL TESTS for instructions on performing these control tests. Positive and negative reactions are described in the section INTERPRETATION OF RESULTS. Negative Control reagent should produce a blue Control Line without any Test Lines. Positive Control contains Norovirus antigens and is expected to produce a blue Control Line and a blue Test Line.

If the expected control reactions are not observed, repeat the control tests as the first step in determining the root cause of the failure. If control failures are repeated please contact your local distributor for technical assistance.

## EXPECTED VALUES

The ImmunoCard STAT! Norovirus test detects the presence of Norovirus antigens in stool. Expected values for a given population should be determined for each laboratory. The rate of positivity may vary depending on patient age, geographic location, season, method of specimen collection, handling and transportation, general health environment of the patient population under study and Norovirus genotype circulating. Noroviruses are recognized as an important cause of acute non bacterial outbreaks of gastroenteritis in all age groups. In children Noroviruses are the second most common cause of gastroenteritis after Rotavirus. Outbreaks of Norovirus have been reported to occur in a variety of settings, especially in semi closed communities such as families, schools, elderly people's homes, hospitals, hotels and cruise ships. The virus has also been identified in sporadic cases of gastroenteritis. While most of the outbreaks have a seasonal pattern, sporadic cases usually occur throughout the year<sup>6</sup>.

## LIMITATIONS OF THE PROCEDURE

1. ImmunoCard STAT! Norovirus is specifically designed to detect Norovirus antigens in stool. As with all *in vitro* diagnostic procedures, test results should be interpreted by a physician in conjunction with other clinical information.
2. A positive result does not exclude the presence of other infective organisms.
3. Do not test meconium stool and stool collected from neonates (one month or younger) since this may result in a false positive result.
4. Failure to add sufficient stool to the Sample Diluent may result in a falsely negative test result. Addition of too much stool may result in invalid test results due to the inhibition of proper sample flow.
5. Stool collected after enemas are not recommended as their performance characteristics have not been evaluated and their use could affect the test results. Stool sample obtained after eating food containing gelatinizing agents to assist swallowing could interfere with the test and are not recommended.

## SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

The ImmunoCard STAT! Norovirus test was evaluated on 196 faecal specimens from healthy individuals and patients with symptoms of gastroenteritis. All specimens were tested by ImmunoCard STAT! Norovirus and compared to RT-PCR as reference test. A total of 98 stool samples resulted positive with RT-PCR for the presence of Norovirus and 98 stool samples were negative by RT-PCR. The test results are reported in the table below:

Comparison of ImmunoCard STAT! Norovirus to RT-PCR (n=196)

		RT-PCR	
		+	-
ImmunoCard STAT! Norovirus	+	80	3
	-	18	95
	<b>Total</b>	<b>98</b>	<b>98</b>

Sensitivity: 81.6% (95% confidence interval 73.9%-89.3%)

Specificity: 96.9% (95% confidence interval 93.5%-100%)

Negative Predictive Value (NPV): 84.4% (95% confidence interval 77.2%-91.6%)

Positive Predictive Value (PPV): 97.0% (95% confidence interval 93.6%-100%)

## REPRODUCIBILITY

Within-run reproducibility has been evaluated. One strong and one weak positive control for Norovirus GI and one strong and one weak positive control for Norovirus GII have been tested with ImmunoCard STAT! Norovirus, each in 5 simultaneous tests. The **Test** line of the ImmunoCard STAT! Norovirus device showed 100% reproducibility with both GI and GII strong and weak positive specimens in all tests. One Negative control specimen has been tested in 5 simultaneous tests and all test results were confirmed negative.

## CROSSREACTIVITY

The ImmunoCard STAT! Norovirus test was evaluated for specificity using the reference bacterial and viral strains listed below.

### Bacteria

Cross reactivity was not observed with the following diarrhoea-causing bacteria, intestinal flora bacteria, and other bacteria causing nosocomial or opportunistic infections ( $1 \times 10^8$  CFU/mL):

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (O6)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (O78)	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> (O114)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i> (O126)	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

### Viruses

Cross reactivity was not observed with the following diarrhoea-causing viruses:

Adenovirus type 40 ( $1 \times 10^{6.5}$ TCID <sub>50</sub> /mL)
Adenovirus type 41 ( $1 \times 10^{5.5}$ TCID <sub>50</sub> /mL)
Rotavirus A ( $1 \times 10^{5.25}$ TCID <sub>50</sub> /mL)

## TESTS FOR INTERFERING SUBSTANCES

The following substances were found to have no effect on results when present in stool at the concentrations indicated.

1. Haemoglobin: tests with added haemoglobin simulating bloody stool showed that a concentration up to 0.5 g/dL had no effect on test results.
2. Intrafat® Injection: this commercially available fat emulsion (soybean oil 10%, 2.5% glycerol, 1.2% egg phosphatide) added to stool to simulate fatty stool showed that a concentration up to 3% had no effect on test results.


 ImmunoCard  
**STAT!** NOROVIRUS

REF Numero di catalogo 757020

IVD Dispositivo medico-diagnostico *In Vitro*
**TEST RAPIDO IMMUNOLOGICO PER LA RICERCA DI ANTIGENI DI NOROVIRUS  
 IN CAMPIONI FECALI UMANI**
**FINALITA' D'USO**

ImmunoCard STAT! Norovirus è un test immunologico rapido che consente la ricerca qualitativa *in vitro* di antigeni di Norovirus in campioni di feci umani. I risultati di tale esame rappresentano un aiuto nella diagnostica della gastroenterite causata da Norovirus.

**SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST**

I Norovirus rappresentano la causa principale di gastroenterite acuta e sono responsabili di epidemie in ambienti chiusi ed affollati, come scuole, ospedali, case di cura e navi da cocciera<sup>1,2,3</sup>. Nei bambini, i Norovirus sono la seconda causa più comune di gastroenterite dopo i Rotavirus<sup>4</sup>. Generalmente, l'infezione è caratterizzata da diarrea e dolori addominali e l'insorgenza di vomito entro le 24-48 ore dall'esposizione. I sintomi dell'infezione da Norovirus durano uno o due giorni e molti guariscono completamente senza alcun trattamento. Comunque in alcune persone e, specialmente nei neonati, negli anziani e nelle persone già affette da altre malattie, il vomito e la diarrea potrebbero causare una grave disidratazione e quindi richiedere cure mediche. I Norovirus sono altamente contagiosi, si diffondono facilmente attraverso il cibo o l'acqua contaminata da materiale fecale. Si può inoltre contrarre l'infezione anche attraverso uno stretto contatto con una persona infetta. Le epidemie di gastroenterite causata da Norovirus sono molto più frequenti di quelle causate da patogeni batterici, sono molto più difficili da controllare e più durature perché il Norovirus viene trasmesso facilmente a causa della bassa dose infettante e persiste nell'ambiente resistendo alla disinfezione con reagenti a base di cloro. Rispetto alla sequenza del gene causidico (VP1) i ceppi umani di Norovirus possono essere raggruppati in due genogruppi (GI e GII)<sup>5</sup>.

**PRINCIPI BIOLOGICI**

ImmunoCard STAT! Norovirus identifica la presenza di antigeni di Norovirus in campioni fecali. Il campione fecale del paziente, raccolto con il tampone fornito, viene diluito nella Provetta del Diluente del Campione. La sospensione viene miscelata e si aggiungono 3 gocce al pozzetto del campione della card. Il campione mobilizza particelle di lattice (blu) coattate con l'anticorpo monoclonale anti-NV-GI (Genogruppo I del Norovirus) e con l'anticorpo monoclonale anti-NV-GII (Genogruppo II del Norovirus) e migra lungo la membrana attraverso la zona **Test** [anticorpi monoclonali immobilizzati anti-NV-GI, anti-NV-GII e anti-NV (quest'ultimo reagisce con entrambi GI e GII)] e attraverso la zona **Controllo** (immunoglobulina di coniglio anti-topo immobilizzata). Dopo 15 minuti, le zone **Test** e **Controllo** vengono osservate per verificare la presenza di linee blu sulla superficie della membrana. Se il Norovirus è presente nel campione, si formerà un complesso tra anticorpo di cattura e anticorpo monoclonale-coniugato con le particelle di lattice, tale complesso risulterà visibile come linea blu nella zona **Test**. L'assenza della linea blu nella zona **Test** indica un risultato negativo. La linea **Controllo** serve come controllo procedurale per assicurare che il campione sia migrato alla distanza appropriata lungo la membrana e che il test abbia funzionato in modo corretto.

**REAGENTI/MATERIALI FORNITI**

- Card del Test:** Card confezionata singolarmente contenente anticorpi monoclonali immobilizzati anti-NV-GI (Genogruppo I), anti-NV-GII (Genogruppo II) e anti-NV (Genogruppo I e II) nella zona **Test**, immunoglobuline di coniglio anti-topo immobilizzate nella zona **Controllo** e anticorpi monoclonali anti-NV-GI e anti-NV-GII coniugati con particelle di lattice mobilizzati nella membrana.
- Provette del Diluente del Campione/Controllo Negativo:** soluzione tampone contenente surfattante e 0.08% di sodio azide come conservante (400 µl/provetta).
- Tamponi:** bastoncini applicatori non sterili di cotone/rayon per la raccolta dei campioni fecali.
- Tappi contagocce con filtro:** tappi di plastica con contagocce e filtro integrato per la filtrazione e dispensazione del campione.

Il numero massimo di test eseguibili con questo kit è indicato sulla confezione esterna.

**MATERIALI NON FORNITI**

- Controllo Positivo** (Nr. di catalogo Meridian 757001, 1 tampone) - tampone di cotone/rayon con antigeni di Norovirus ricombinanti non infettivi.
- Timer**



## PRECAUZIONI

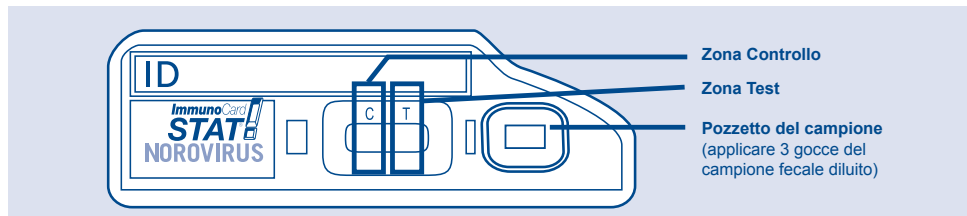
1. Tutti i reagenti sono destinati esclusivamente ad uso diagnostico *in vitro* e sono pronti all'uso.
2. La concentrazione dei reagenti, i tempi e la temperatura di incubazione (15-30°C) sono stati ottimizzati per ottenere la massima sensibilità e specificità. Pertanto, per ottenere risultati attendibili, la procedura deve essere seguita scrupolosamente. Una volta iniziato il test, completare tutti i passaggi successivi senza interruzioni.
3. I campioni fecali devono essere miscelati accuratamente per assicurare il prelievo di un campione rappresentativo. Non utilizzare feci essiccate.
4. Per la raccolta di campioni fecali, accertarsi di utilizzare i tamponi di cotone/raion forniti nel kit ImmunoCard STAT Norovirus. Questi tamponi sono stati studiati appositamente per la raccolta dei campioni fecali e per l'uso con questo kit. Si consiglia di non utilizzare questi tamponi per altre applicazioni. Utilizzare i tamponi per raccogliere i campioni fecali emessi all'esterno dal corpo umano. Non utilizzare tamponi rettali con questo test.
5. E' importante seguire attentamente le istruzioni per la diluizione delle feci. Un inoculo di feci troppo abbondante nel Diluente del Campione può causare l'ostruzione del filtro nel tappo contagocce impedendo la dispensazione del campione nella card. Una quantità eccessiva di campione raccolto può limitare il flusso all'interno della Card del Test determinando così un risultato non valido. In caso di ostruzione del tappo contagocce o della membrana della Card del Test, ricominciare dalla raccolta del campione fecale in una nuova Provetta del Diluente del Campione ed assicurarsi di prelevare la quantità di campione indicata.
6. Dopo l'aggiunta del campione fecale alla Provetta del Diluente del Campione inserire bene il tappo contagocce ed eseguire immediatamente il test.
7. Campioni fecali scuri potrebbero colorare la membrana della Card del Test e si potrebbero riscontrare delle difficoltà nella lettura dei risultati.
8. I campioni fecali dei pazienti e le card usate del kit ImmunoCard STAT! Norovirus possono contenere agenti infettivi pertanto dovrebbero essere trattati ed eliminati come materiale biologico potenzialmente pericoloso.
9. Conservare i componenti dei kit a 2-30°C, evitare l'esposizione diretta alla luce solare. Non congelare.
10. Non utilizzare il kit dopo la sua scadenza. Non scambiare i reagenti appartenenti a kit di lotti diversi.
11. Prima di effettuare il test, assicurarsi che i componenti del kit ed i campioni fecali abbiano raggiunto la temperatura ambiente (15-30°C) poichè i reagenti e/o i campioni fecali freddi possono diminuire la sensibilità del test. Dopo la refrigerazione, i reagenti devono essere mantenuti a temperatura ambiente per 20-30 minuti.
12. Prima di effettuare il test assicurarsi che i Tamponi, le Card del Test, le Provette del Diluente del Campione, il Tappo Contagocce con il Filtro non siano difettosi o danneggiati. Non utilizzare se danneggiati.
13. In caso di comparsa di bolle sul fondo della Provetta del Diluente del Campione, picchiare leggermente la provetta sul banco per eliminarle, prima di rimuovere l'etichetta adesiva di alluminio.
14. Durante l'applicazione del campione alla Card del Test, tenere la Provetta del Diluente del Campione in posizione verticale per assicurare la dispensazione di gocce di volume corretto.
15. Le istruzioni d'uso dovrebbero essere lette accuratamente prima di effettuare il test.

## DURATA E CONSERVAZIONE

La data di scadenza è riportata sull'etichetta del kit. I componenti del kit devono essere utilizzati prima della data di scadenza. Conservare il kit a 2-30°C.

## NOTE PROCEDURALI

1. La Card del kit ImmunoCard STAT! Norovirus è rappresentata nella figura sottostante.
2. E' possibile eseguire più test contemporaneamente, se si rispettano gli esatti tempi di incubazione per ogni card.
3. La zona **Controllo** di ciascuna Card fornisce un controllo procedurale per ciascun campione per verificare la corretta migrazione dei campioni e dei reagenti lungo la membrana, nonché l'adeguato funzionamento dei reagenti.



## PREPARAZIONE DEI REAGENTI

1. Tutti i reagenti sono pronti all'uso (un'ulteriore diluizione non è necessaria).
2. Quando il kit è conservato in frigorifero, lasciare che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (15-30°C) prima dell'uso.
3. Dopo aver tolto la Card del Test dal suo involucro o il sigillo di alluminio dalla Provetta del Diluente del Campione, utilizzarli immediatamente.
4. In base al numero di campioni da esaminare, preparare il numero esatto di Tamponi per raccogliere i campioni fecali, di Provette del Diluente del Campione, di Tappi Contagocce con Filtro e di Card del Test.

## RACCOLTA E TRATTAMENTO DEI CAMPIONI

Al fine di ottenere i migliori risultati, i campioni dovrebbero essere prelevati immediatamente dopo l'insorgenza dei sintomi, la concentrazione di Norovirus nelle feci raggiunge il picco massimo tra il 1° e il 4° giorno dall'inizio dei sintomi. **NON UTILIZZARE** le feci in terreni di trasporto o in conservanti.

Il materiale fecale può essere raccolto utilizzando i metodi standard di laboratorio, sempre che non si verifichino diluizioni del campione. Per la raccolta utilizzare un contenitore pulito e vuoto.

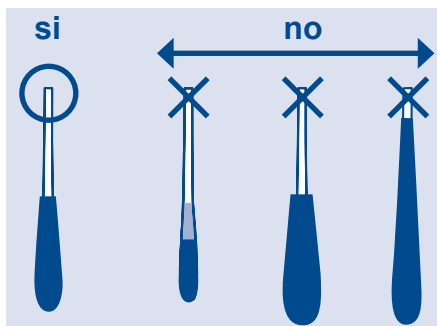
Il campione dovrebbe essere esaminato al più presto dopo il prelievo, ma può essere conservato in frigorifero (2-8°C) fino a 24 ore prima del test. Se fosse impossibile eseguire il test in questo lasso di tempo, conservare il campione in congelatore senza sbrinamento automatico (a -20°C o a temperature inferiori) fino all'esecuzione del test.

## PROCEDURA DEL TEST

**Questo test dovrebbe essere eseguito da personale qualificato in base alle regolamentazioni locali.**

**Nota:** Tutti i componenti del kit devono essere portati a 15-30°C prima dell'uso.

1. Togliere il sigillo di alluminio dalla Provetta del Diluente del Campione.
  2. Diluizione del Campione:  
raccogliere il campione fecale con il Tampone fornito nel kit come spiegato nel diagramma qui di seguito.  
I tamponi di altra origine non sono stati validati.
- **Feci liquide:** raccogliere accuratamente immergendo il tampone e coprendone completamente tutta la superficie di cotone/rayon.
  - **Feci solide o sciolte:** raccogliere una quantità sufficiente a coprire con uno strato leggero la superficie del tampone di cotone/rayon ruotando più volte il tampone stesso.
- Le feci dovrebbero essere assorbite dal tampone di cotone/rayon come nel disegno qui di seguito



3. Introdurre immediatamente il tampone nella Provetta del Diluente del Campione.
  4. Miscelare energicamente la soluzione ruotando il tampone contro le pareti della provetta.
  5. Estrarre il tampone dalla provetta premendo le pareti della stessa in modo da rilasciare più liquido possibile. Eliminare il tampone.
  6. Inserire bene il Tappo Contagocce con filtro nella Provetta del Diluente del Campione.
  7. Togliere la Card del Test dal suo involucro ed identificarla in modo appropriato. Utilizzare una sola card per ogni campione o controllo.
  8. Capovolgere la provetta e dispensare 3 gocce di campione diluito nel pozzetto del **Campione** (indicato con una freccia) della Card del Test.
  9. Incubare per 15 minuti a 15-30°C.
- NOTA:** Durante i 15 minuti di incubazione, il campione diluito deve passare attraverso la zona **Controllo**.
10. Al termine del periodo di incubazione leggere immediatamente le zone **Controllo** e **Test** per verificare la presenza o l'assenza di una linea blu.

## TEST DI CONTROLLO ESTERNO

**Tampone di Controllo Positivo** (Nr. di catalogo Meridian 757001) e **Diluente del Campione/Controllo Negativo** sono da utilizzarsi per i test di controllo di qualità esterno come indicato nella sezione CONTROLLO QUALITÀ'.

**Test di Controllo Positivo:** dopo aver tolto il Tampone di Controllo Positivo dall'involucro metterlo immediatamente nella Provetta del Diluente del Campione. Tratarlo come un campione di paziente continuando come riportato al punto 4 della PROCEDURA DEL TEST.

**Test di Controllo Negativo:** togliere il sigillo di alluminio dalla Provetta del Diluente del Campione. Continuare come riportato al punto 6 della PROCEDURA DEL TEST, come per un campione di paziente.

Il Controllo Positivo dovrebbe dare luogo allo sviluppo di una linea blu in entrambe le zone **Test** e **Controllo**.

Il Controllo Negativo dovrebbe dare luogo allo sviluppo di una linea blu solo nella zona **Controllo**. Non devono comparire linee nella zona **Test**.

## INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI



**Risultato Positivo:** linea blu visibile nelle zone **Test** e **Controllo**. Il colore della linea **Test** può variare da azzurro chiaro a blu intenso. Un risultato positivo indica la presenza di antigeni di Norovirus.

**Risultato Negativo:** linea blu visibile nella zona **Controllo**. Nessuna linea nella zona **Test**. Un risultato negativo indica che gli antigeni di Norovirus sono assenti o al di sotto del limite di rilevazione del metodo.

**Risultato non valido:** non si evidenzia alcuna linea blu nella zona **Controllo**, indipendentemente dalla presenza o assenza di linea nella zona **Test**.

I risultati non validi possono essere causati da problemi dei Reagenti o delle Card, da errori procedurali o da un eccessivo inoculo di campione fecale nel Diluente del Campione durante la diluizione del campione stesso. Diluire nuovamente le feci e ripetere il test.

## CONTROLLO QUALITA'

Prima dell'utilizzo, i componenti dei kit dovrebbero essere controllati visivamente per individuare segni di contaminazione batterica, congelamento o perdite di liquido. Non utilizzare reagenti contaminati o deteriorati.

### 1. Controllo interno

Un controllo interno della procedura è incluso in ogni Card del Test ed è quindi valutato con l'esecuzione di ogni test. La comparsa di una linea blu nella zona Controllo serve come controllo procedurale interno ed indica che il test è stato eseguito correttamente, che la migrazione è avvenuta in modo appropriato e che i reagenti del test sono reattivi al momento dell'utilizzo.

### 2. Controlli esterni

I controlli esterni (Positivo e Negativo) servono per verificare la reattività dei reagenti e dovrebbero essere esaminati in base ai requisiti del laboratorio o alle normative locali, statali, nazionali degli enti di accreditamento. A questo scopo si raccomanda l'utilizzo del Controllo Positivo (Nr. di catalogo Meridian 757001) e del Controllo Negativo (Provetta del Diluente del Campione). E' preferibile esaminare il Controllo Positivo e Negativo al ricevimento del kit. Successivamente il controllo procedurale, eseguito con ogni test, è sufficiente per verificare l'integrità dei reagenti e la reattività del test.

Se il test dei controlli non dovesse dare i risultati attesi questo potrebbe indicare che uno dei reagenti o componenti non è più reattivo al momento dell'utilizzo, che il test non è stato eseguito correttamente o che i reagenti o i campioni non sono stati aggiunti. Per le istruzioni sulla procedura dei test di controllo fare riferimento alla sezione TEST DI CONTROLLO ESTERNO. Le reazioni positive e negative dei controlli sono descritte nella sezione INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI. Il Controllo Negativo dovrebbe produrre una linea blu nella zona Controllo e nessuna linea nella zona Test. Il Controllo Positivo contiene antigeni di Norovirus e quindi dovrebbe produrre una linea blu nella zona Controllo ed una linea blu nella zona Test.

Se i controlli non dovessero dare i risultati attesi, come prima verifica per determinare la causa dell'insuccesso, si consiglia di ripetere nuovamente il test. In caso di ulteriori risultati non corretti, contattare il distributore locale per l'assistenza tecnica.

## VALORI ATTESI

Il test ImmunoCard STAT! Norovirus identifica la presenza di antigeni di Norovirus nelle feci. I valori attesi per una certa popolazione dovrebbero essere determinati da ogni laboratorio. Il tasso di positività può variare a seconda dell'età del paziente, della provenienza geografica, della stagione, del metodo di raccolta dei campioni, del loro trattamento e trasporto, dello stato di salute generale della popolazione del paziente sotto esame e del genotipo di Norovirus circolante. I Norovirus sono riconosciuti come una delle maggiori cause di gastroenterite acuta non batterica che colpisce individui di ogni età. Nei bambini i Norovirus sono la seconda causa di gastroenterite più comune dopo il Rotavirus. E' stato descritto che epidemie di Norovirus si verificano in una varietà di contesti, specialmente in luoghi semi chiusi come in famiglia, scuole, case di riposo per persone anziane, ospedali, hotel e navi da crociera. Il virus è stato inoltre associato a casi sporadici di gastroenterite. Mentre la maggior parte delle epidemie ha carattere stagionale, casi sporadici di infezione si possono verificare nel corso di tutto l'anno<sup>6</sup>.

## LIMITAZIONI DELLA PROCEDURA

1. Il test ImmunoCard STAT! Norovirus è stato specificamente sviluppato per identificare antigeni di Norovirus nelle feci. Come per tutte le altre procedure diagnostiche *in vitro*, i risultati del test dovrebbero essere valutati dal medico curante alla luce del quadro clinico del paziente e del risultato di tutti gli altri esami eseguiti.
2. Un risultato positivo non esclude la presenza di altre infezioni.
3. Si consiglia di non esaminare con questo test feci di meconio e quelle di neonati (di 1 mese o più piccoli) perché si potrebbe verificare un risultato falsamente positivo.
4. L'aggiunta di una quantità insufficiente di materiale fecale al Diluente del Campione potrebbe causare un risultato falsamente negativo. L'aggiunta di una quantità eccessiva di campione fecale potrebbe causare risultati non validi a causa di una migrazione del campione non appropriata.

5. Si consiglia di non raccogliere feci dopo clisteri perchè, per questo tipo di campione, i risultati del test non sono stati valutati e il loro utilizzo potrebbe dare risultati non attendibili. I campioni fecali ottenuti dopo aver ingerito alimenti che contengono agenti gelatinizzanti per facilitare la deglutizione potrebbero interferire con il test e quindi non consigliabili.

### CARATTERISTICHE SPECIFICHE DELLE PRESTAZIONI

Il test ImmunoCard STAT! Norovirus è stato valutato su 196 campioni fecali di pazienti sani e pazienti con sintomi di gastroenterite. Tutti i campioni sono stati analizzati con ImmunoCard STAT! Norovirus e confrontati con RT-PCR come test di riferimento. Un totale di 98 campioni fecali sono risultati positivi con RT-PCR per la presenza di Norovirus e 98 campioni sono risultati negativi con RT-PCR. I risultati dei test sono elencati nella tabella qui di seguito:

Confronto del test ImmunoCard STAT! Norovirus con RT-PCR (n=196)

		RT-PCR	
		+	-
ImmunoCard STAT! Norovirus	+	80	3
	-	18	95
	Totale	98	98

Sensibilità: 81.6% (95% intervallo di confidenza 73.9%-89.3%)

Specificità: 96.9% (95% intervallo di confidenza 93.5%-100%)

Valore Predittivo Negativo (VPN): 84.4% (95% intervallo di confidenza 77.2%-91.6%)

Valore Predittivo Positivo (VPP): 97.0% (95% intervallo di confidenza 93.6%-100%)

### RIPRODUCIBILITA'

E' stata valutata la riproducibilità intra-saggio. Sono stati esaminati con ImmunoCard STAT! Norovirus 5 replicati di un controllo positivo forte ed uno debole per Norovirus GI ed un controllo positivo forte ed uno debole per Norovirus GII. La linea **Test** del kit ImmunoCard STAT! Norovirus ha mostrato una riproducibilità del 100% per entrambi i campioni positivi forti e deboli di GI e GII in tutti i test. Sono stati esaminati 5 replicati di campioni di controllo negativo e tutti i test sono risultati negativi.

### CROSS-REAZIONE

E' stata valutata la specificità del test ImmunoCard STAT! Norovirus utilizzando i ceppi batterici e virali di riferimento elencati qui di seguito.

#### Batteri

Non è stata osservata cross-reaazione con i batteri che causano diarrea, con quelli della flora intestinale e altri batteri che causano infezioni nosocomiali o opportunistiche ( $1 \times 10^8$  CFU/mL), elencati qui di seguito:

*Bacillus cereus*

*Campylobacter coli*

*Campylobacter jejuni*

*Citrobacter freundii*

*Clostridium perfringens*

*Enterococcus faecalis*

*Escherichia coli* (O6)

*Escherichia coli* (O78)

*Escherichia coli* (O114)

*Escherichia coli* (O126)

*Listeria monocytogenes*

*Proteus mirabilis*

*Pseudomonas aeruginosa*

*Salmonella enteritidis*

*Salmonella typhimurium*

*Shigella flexneri*

*Shigella sonnei*

*Vibrio cholerae*

*Vibrio parahaemolyticus*

#### Virus

Non è stata osservata cross-reaazione con i seguenti virus che causano diarrea:

Adenovirus type 40 ( $1 \times 10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

Adenovirus type 41 ( $1 \times 10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

Rotavirus A ( $1 \times 10^{5.25}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

### TEST PER LE SOSTANZE INTERFERENTI

Si è verificato che le sostanze riportate qui di seguito non hanno alcun effetto sui risultati quando sono presenti nei campioni fecali alle concentrazioni indicate:

1. Emoglobina: l'aggiunta di emoglobina alle feci ad una concentrazione fino allo 0.5 g/dL per simulare feci sanguinanti non ha mostrato interferenze sui risultati.
2. Iniezione di Intrafat®: questa emulsione grassa disponibile in commercio (olio di soia 10%, 2.5% glicerolo, 1.2% fosfatide d'uovo) aggiunta ai campioni fecali per simulare feci grasse ha mostrato che ad una concentrazione fino al 3% non interferisce sui risultati.


 ImmunoCard  
**STAT!** NOROVIRUS

REF

Référence du catalogue 757020

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
**TEST IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUE RAPIDE POUR LA DÉTECTION DES ANTIGÈNES DE NOROVIRUS  
DANS LES SELLES HUMAINES**
**BUT DE LA METHODE**

Le test immunochromatographique rapide ImmunoCard STAT! Norovirus est une procédure qualitative *in vitro*, pour la détection des antigènes de Norovirus dans les échantillons de selles humaines. Ce test peut être utilisé comme une aide au diagnostic des gastro-entérites associées au Norovirus.

**RESUME ET EXPLICATION DU TEST**

Les infections à Norovirus sont une cause majeure de gastro-entérites aiguës et sont impliquées dans des épidémies touchant des environnements confinés ou surpeuplés tels que les écoles, les hôpitaux, les maisons de repos et les navires de croisière.<sup>1,2,3</sup> Chez les enfants, les infections à Norovirus sont la deuxième cause la plus commune de gastro-entérite après le Rotavirus.<sup>4</sup> Généralement, les personnes atteintes d'une infection à Norovirus présentent une diarrhée et des douleurs abdominales ainsi que des vomissements dans les 24 à 48 heures après exposition. Les symptômes dus à l'infection à Norovirus durent 1 ou 2 jours. La plupart des malades guérissent complètement sans traitement. Toutefois, chez certaines personnes, en particulier les nourrissons, personnes âgées ou personne atteinte de maladie sous-jacente, la diarrhée et les vomissements entraînent une forte déshydratation qui nécessite des soins médicaux. Les Norovirus sont très contagieux; ils se transmettent habituellement par les aliments ou l'eau, contaminés par les matières fécales. L'infection peut également être acquise par un contact étroit avec une personne infectée. Les épidémies de gastro-entérites sont plus fréquentes que celles dues aux bactéries pathogènes. Elles sont difficiles à contrôler et sont de longue durée. En effet, le Norovirus est aisément transmis en raison de sa faible dose infectieuse et persiste dans l'environnement résistant à la désinfection et la chloration. Les souches de Norovirus rencontrés dans l'espèce humaine se distinguent en 2 génogroupes (GI et GII) sur base de la séquence de leur gène de capsid (VP1).<sup>5</sup>

**PRINCIPE DU TEST**

Le test ImmunoCard STAT! Norovirus détecte la présence des antigènes de Norovirus dans les selles. L'échantillon du patient recueilli à l'aide d'un écouvillon fourni dans le coffret est dilué dans un tube de diluant pour échantillon. La suspension est mélangée et 3 gouttes du mélange sont ajoutées aux puits Echantillon de la carte. L'échantillon entraîne les particules (bleues) de latex recouvertes d'anticorps monoclonaux anti-NV-GI (génogroupe I du Norovirus) et anti-NV-GII (génogroupe II du Norovirus) et migre le long de la membrane passant les lignes de **Test** (anticorps monoclonaux anti-NV-GI, anti-NV-GII et anti-NV, commun aux génogroupes GI et GII, immobilisés) et de **Contrôle** (immunoglobulines anti-souris de lapin immobilisées). Après 15 minutes d'incubation, les zones de **Test** et de **Contrôle** sont examinées pour la présence de lignes bleues sur la surface de la membrane. En cas de présence de Norovirus dans l'échantillon, un complexe entre l'anticorps de capture et le conjugué anticorps monoclonal-latex se forme et apparaît comme une ligne bleue au niveau de la zone de **Test**. L'absence de ligne bleue dans la zone de **Test** indique un résultat négatif. La ligne de **Contrôle** sert de contrôle interne de la procédure afin de s'assurer que l'échantillon a bien migré tout le long de la membrane et que le test a fonctionné correctement.

**MATERIEL FOURNI**

- Cartes de test:** Cartes sous sachet individuel contenant des anticorps monoclonaux anti-NV-GI (génogroupe I), anti-NV-GII (génogroupe II) et anti-NV (commun aux génogroupes I et II) (zone **Test**), des anticorps anti-souris de lapin (zone **Contrôle**) et, incorporés, des anticorps monoclonaux anti-NV-GI et anti-NV-GII conjugués à des particules de latex.
  - Tubes de Diluant pour échantillon/Contrôle Négatif:** Tampon contenant du surfactant et 0,08% d'azoture de sodium comme conservateur (400µL/tube).
  - Écouvillons:** bâtonnet avec embout en coton/rayon non-stérile, pour la collecte de selles.
  - Capuchons compte:** gouttes avec filtre- bouchon en plastique avec compte-gouttes et filtre intégré, pour la filtration et la distribution de l'échantillon.
- Le nombre maximal de tests pouvant être réalisés à partir de ce coffret est indiqué sur la boîte.

## MATERIEL NON FOURNI

1. **Contrôle Positif (Catalogue Meridian #757001, 1 écouvillon):** Ecouvillon coton/rayon recouvert d'antigènes recombinants de Norovirus, non infectieux.
2. **Minuteur.**

## PRECAUTIONS

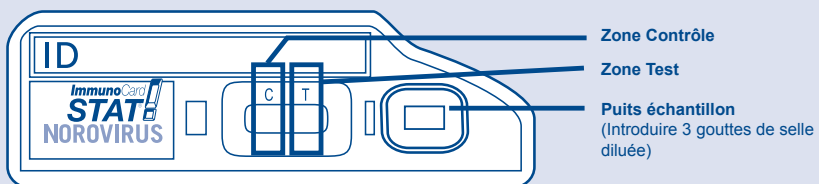
1. Tous les réactifs sont destinés exclusivement au diagnostic *in vitro*.
2. Les concentrations des réactifs, les temps d'incubation et les températures (15-30°C) ont été ajustées pour obtenir une sensibilité et une spécificité optimales. Les meilleurs résultats sont donc obtenus en respectant ces spécifications. Lorsque le test est lancé, effectuer toutes les étapes subséquentes sans interruption.
3. Les selles de patients doivent être mélangées soigneusement afin d'obtenir un échantillon représentatif avant le prélèvement. Ne pas utiliser des selles desséchées.
4. Pour la collection d'échantillons fécaux, veiller à utiliser les écouvillons coton/rayon fournis avec le coffret ImmunoCard STAT! Norovirus. Ces écouvillons ont été spécifiquement conçus pour la collecte des selles et leur utilisation avec ce test. Ne pas utiliser ces écouvillons pour d'autres applications. Utiliser ces écouvillons pour l'échantillonnage de selles. Ne pas utiliser d'écouvillons rectaux avec ce test.
5. Il est important de diluer la selle comme indiqué. Une saturation de selle dans le diluant causerait un colmatage dans le filtre du capuchon compte-gouttes et compromettre la distribution de l'échantillon sur la carte. De même, l'ajout d'une quantité excessive de selle peut produire un résultat de test non valide du fait de la restriction du flux de l'échantillon. Lorsque un colmatage du filtre ou au niveau de la membrane de la carte se produit, reprendre la selle et refaire une dilution au moyen d'un nouveau tube de diluant pour échantillon en respectant la quantité de selle à collecter.
6. Une fois la selle ajoutée au diluant pour échantillon, fixer le capuchon-filtre et procéder au test immédiatement, sans délai.
7. Les selles noirâtres peuvent colorer la membrane de la carte de test et rendre la lecture du résultat difficile.
8. Les selles de patients et les cartes de test ImmunoCard STAT! Norovirus usagées peuvent contenir des agents infectieux. Elles doivent être manipulées avec précaution et écartées comme potentiellement dangereux.
9. Conserver le coffret et ses composants à 2-30°C en évitant l'exposition directe à la lumière du jour. Ne pas congeler.
10. Ne pas utiliser le coffret après sa date de péremption. Ne pas interchanger les réactifs de différents lots de coffret.
11. Ramener les composants du coffret et les selles de patients à température ambiante (15-30°C) avant de procéder au test. En effet, des réactifs et/ou échantillons froids peuvent réduire la sensibilité du test. Il faut environ 30 minutes pour une mise à température ambiante après réfrigération.
12. Avant de procéder au test, vérifier les écouvillons, cartes de test, tubes de diluant pour échantillon, capuchons compte-gouttes avec filtre pour tout dommage ou anomalie. Ne pas utiliser s'ils sont endommagés ou suspects.
13. Si des bulles d'air sont visibles dans le bas du tube contenant le diluant, les éliminer en tapant légèrement le tube sur une surface dure avant d'enlever la protection en aluminium.
14. Lors de l'ajout de l'échantillon sur la carte de test, tenir le tube de diluant pour échantillon verticalement afin d'assurer une taille de goutte correcte.
15. Lire attentivement les instructions de la notice avant d'effectuer tout test.

## CONSERVATION DES REACTIFS

La date de péremption est indiquée sur l'étiquette du coffret. Les composants du coffret doivent être utilisés avant la date de péremption du coffret. Conserver le coffret entre 2 et 30°C.

## REMARQUES SUR LA PROCEDURE

1. La carte ImmunoCard STAT! Norovirus se présente comme ci-dessous.
2. Il est possible de traiter plusieurs échantillons à la fois, à condition que les temps d'incubation soient respectés pour chaque carte de test.
3. La zone **Contrôle** de chaque carte fournit un contrôle interne de la procédure pour chaque échantillon. Ceci permet de vérifier que l'échantillon a suffisamment migré dans le système pour donner un résultat valide.



## PREPARATION DES REACTIFS

1. Tous les réactifs sont fournis prêts à l'emploi et ne requièrent aucune dilution.
2. Lorsque le coffret est conservé dans le réfrigérateur, laisser tous les composants du coffret revenir à 15-30°C avant utilisation.
3. Après avoir retiré la carte de test de son emballage ou enlevé la protection en aluminium du tube de diluant pour échantillon, les utiliser immédiatement.
4. En fonction du nombre d'échantillons à tester, préparer le nombre correspondant d'écouvillons, de tubes de diluant pour échantillon, de capuchons-filtre et de cartes de tests à utiliser.

## PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Pour obtenir les meilleurs résultats, les échantillons doivent être recueillis après l'apparition des symptômes. Les concentrations de Norovirus dans la selle culminent 1 à 4 jours après le début des symptômes. NE PAS utiliser les selles conservées dans un milieu de transport ou un conservateur.

Les échantillons de selle peuvent être recueillis suivant la technique utilisée en routine dans le laboratoire, sachant que les échantillons ne doivent pas être dilués. Un échantillon peut être recueilli dans un récipient propre, vide.

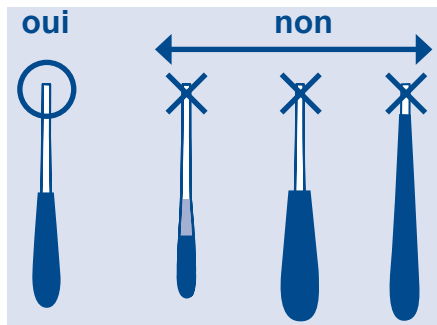
Les échantillons doivent être testés aussitôt que possible, mais peuvent être conservés jusqu'à 24 heures à 2-8°C avant d'être testés. Si le test ne peut être réalisé dans cet intervalle de temps, les échantillons doivent être congelés dans un congélateur à une température  $\leq -20^{\circ}\text{C}$ .

## PROCEDURE DU TEST

**Ce test doit être réalisé par un personnel qualifié, en fonction des exigences des réglementations locales.**

**Remarque: tous les réactifs doivent être à 15-30°C avant emploi.**

1. Retirer la protection en aluminium du tube de diluant pour échantillon.
  2. Dilution des échantillons:  
A l'aide d'un écouvillon inclus dans le coffret, collecter l'échantillon de selle comme décrit dans le schéma ci-dessous. Les écouvillons provenant d'autres fournisseurs n'ont pas été validés.
- **Selles liquides:** pour la collection, tremper en profondeur l'écouvillon dans l'échantillon afin de couvrir la totalité de la surface coton/rayon.
  - **Selles solides ou molles:** collecter une quantité de selle telle qu'elle couvre légèrement la surface coton/ rayon de l'écouvillon et faire pivoter l'écouvillon quelques fois pour bien l'imprégner.
  - La selle doit être absorbée par l'écouvillon coton/ rayon comme le montre le schéma ci-dessous.



3. Plonger immédiatement l'écouvillon dans le tube de diluant pour échantillon.
4. Mélanger vigoureusement la solution par rotation de l'écouvillon contre les parois du tube.
5. Extraire le plus de liquide possible de l'écouvillon en pressant les parois du tube lorsque l'écouvillon est retiré. Jeter l'écouvillon.
6. Fixer fermement le capuchon compte-gouttes avec filtre sur le tube de diluant pour échantillon.
7. Retirer la carte de test de sa pochette et l'identifier de manière appropriée. Utiliser une carte pour chaque contrôle ou échantillon dilué.
8. Retourner le tube et faire tomber 3 gouttes d'échantillon dilué dans le puits **Echantillon** (indiqué par une flèche) de la carte de test.
9. Incuber 15 minutes à 15-30°C. **Remarque:** pendant les 15 minutes d'incubation, l'échantillon dilué doit dépasser la zone de **Contrôle**.

10. A la fin de la période d'incubation, lire immédiatement les zones **Contrôle** et **Test** pour la présence ou l'absence d'une ligne bleue.

### TESTS DE CONTROLES EXTERNES

L'**Écouvillon Contrôle Positif** (Catalogue Meridian #757001) et le **Diluant pour échantillon/Contrôle Négatif** sont destinés à des tests de qualité externes comme indiqué dans le paragraphe CONTROLE DE QUALITE.

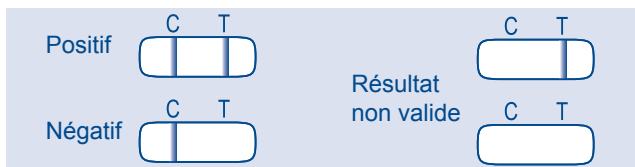
**Test Contrôle Positif:** après avoir retiré l'écouvillon de Contrôle Positif de son emballage, le placer immédiatement dans le diluant pour échantillon. Poursuivre comme pour un échantillon de patient, à partir de l'étape 4 de la PROCEDURE DU TEST.

**Test Contrôle Négatif:** retirer la protection en aluminium du tube de diluant pour échantillon. Poursuivre comme pour un échantillon de patient, à partir de l'étape 6 de la PROCEDURE DU TEST.

Le Contrôle Positif doit montrer des lignes de **Test** et de **Contrôle** bleues visuellement détectables.

Le Contrôle Négatif doit montrer une ligne **Contrôle** bleue visuellement détectable. Aucune ligne **Test** ne doit être présente.

### INTERPRETATION DES RESULTATS



**Résultat de test positif:** lignes **Test** et **Contrôle** bleues visuellement détectables. La couleur bleue de la ligne **Test** peut varier d'un bleu faible à intense. Un résultat positif indique la présence d'antigènes de Norovirus.

**Résultat de test négatif:** ligne **Contrôle** bleue visuellement détectable. Pas de ligne **Test** bleue présente. Un résultat négatif indique l'absence d'antigènes de Norovirus, ou à un taux inférieur à la limite de détection.

**Résultat de test non valide:** pas de ligne **Contrôle** bleue visuellement détectable avec ou sans ligne **Test** bleue visuellement détectable. Les résultats de test non valides peuvent être dus à un problème de réactif ou du système, une erreur de procédure, ou une saturation de selle dans le diluant pour échantillon lors de la dilution des échantillons. Diluer la selle à nouveau et répéter le test.

### CONTROLE DE QUALITE

À chaque utilisation, examiner visuellement le contenu du coffret pour vérifier qu'aucun réactif ne présente de signes évidents de contamination microbienne, de congélation ou de fuite. Ne pas utiliser de réactifs contaminés ou suspects.

#### 1. Contrôle interne

Un contrôle interne de la procédure est inclus dans chaque carte de test et est donc évalué à chaque test. Une ligne bleue de contrôle sert de contrôle procédural. Elle indique que le test a été effectué correctement, que la migration s'est réalisée correctement et que les réactifs étaient actifs au moment de leur utilisation.

#### 2. Contrôles externes

Les réactifs de contrôle (Positif et Négatif) sont utilisés pour vérifier la réactivité des composants du coffret et doivent être testés conformément aux exigences du laboratoire, des agences locales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation. Dans ce but, le test du Contrôle Positif (Catalogue Meridian #757001) et du Contrôle Négatif (Tube de diluant pour échantillon) est recommandé. Les Contrôles Positif et Négatif sont testés à la réception du coffret. Par la suite, le contrôle interne de la procédure, réalisé lors de chaque test, est suffisant pour vérifier l'intégrité des réactifs et la réactivité du test.

Si les contrôles ne produisent pas les résultats attendus, cela peut indiquer que l'un des réactifs ou des composants n'est plus réactif au moment de l'utilisation, que le test n'a pas été effectué correctement ou que les réactifs ou les échantillons n'ont pas été ajoutés. Se référer au paragraphe TESTS DE CONTROLES EXTERNES pour la réalisation des tests de contrôle. Les réactions positives et négatives des contrôles sont décrites dans la section INTERPRETATION DES RESULTATS. Le Contrôle Négatif doit donner une ligne de Contrôle bleue sans ligne au niveau de la position Test. Le Contrôle Positif contient les antigènes du Norovirus et doit donner une ligne bleue au niveau des positions Contrôle et Test.

Si les contrôles ne produisent pas les résultats attendus, la première étape pour déterminer la cause de l'échec est de répéter les tests de contrôle. Contacter le Service Technique de Meridian Bioscience ou votre distributeur local pour assistance si les résultats de contrôle attendus ne sont pas observés de façon répétée.



## VALEURS ATTENDUES

Le test ImmunoCard STAT! Norovirus détecte la présence d'antigènes de Norovirus dans les selles. Les valeurs attendues pour une population donnée doivent être déterminées pour chaque laboratoire. Le taux de positivité varie en fonction de l'âge des patients, de la localisation géographique, de la méthode de prélèvement, de la manipulation et du transport des échantillons, du test employé et de l'environnement sanitaire général de la population de patients étudiée et du génotype Norovirus circulant. Le Norovirus est reconnu comme une cause importante d'épidémie de gastro-entérite non-bactérienne dans tous les groupes d'âge. Chez les enfants, les infections à Norovirus sont la deuxième cause la plus commune de gastro-entérite après le Rotavirus. Il est décrit que les épidémies de Norovirus se produisent dans une variété de contexte, en particulier dans les communautés semi-fermées telles que les familles, les écoles, les personnes âgées en maison de repos, hôpitaux, hôtels et navires de croisière. Le virus a également été identifié dans des cas sporadiques de gastro-entérite. Si la plupart des foyers épidémiques ont un caractère saisonnier, des cas sporadiques se produisent toute l'année.<sup>6</sup>

## LIMITES DU TEST

1. Le test ImmunoCard STAT! Norovirus a été spécifiquement développé pour la détection des antigènes de Norovirus dans les selles. Comme avec toutes les procédures de test *in vitro*, les résultats du test doivent être interprétés par un praticien, à la lumière des autres informations cliniques.
2. Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres organismes infectieux.
3. L'utilisation de selles de méconium et de selles de nouveau-nés (âgés d'un mois ou moins) n'est pas recommandée avec ce test car elles pourraient donner des résultats faussement positifs.
4. L'ajout d'une quantité insuffisante de selles au diluant peut donner un résultat faussement négatif. L'ajout d'une quantité excessive de selle peut produire un résultat de test non valide du fait de la restriction du flux de l'échantillon.
5. Les selles recueillies après lavements ne sont pas recommandées car les performances du test sur ce type d'échantillon n'ont pas été évaluées. Leur utilisation pourrait affecter les résultats de tests. Les échantillons de selles obtenus après avoir mangé des aliments contenant des agents géliants pour faciliter la déglutition pourraient interférer avec le dosage et ne sont pas recommandés.

## CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES ET PERFORMANCES DU TEST

Le test ImmunoCard STAT! Norovirus a été évalué sur 196 selles de volontaires sains et de patients présentant des symptômes de gastro-entérites. Tous les échantillons ont été testés par ImmunoCard STAT! Norovirus et comparés à la méthode de référence RT-PCR. 98 échantillons de selles étaient positifs pour la présence de Norovirus avec la RT-PCR et 98 échantillons de selles étaient négatifs avec la RT-PCR. Les résultats sont repris dans le tableau ci-dessous :

Comparaison du test ImmunoCard STAT! Norovirus à la méthode RT-PCR (n=196)

		RT-PCR	
		+	-
ImmunoCard STAT! Norovirus	+	80	3
	-	18	95
	Total	98	98

Sensibilité: 81,6% (95% intervalle de confiance: 73,9%-89,3%)

Spécificité: 96,9% (95% intervalle de confiance: 93,5%-100%)

Valeur Prédicative Négative (VPN): 84,4% (95% intervalle de confiance: 77,2%-91,6%)

Valeur Prédicative Positive (VPP): 97,0% (95% intervalle de confiance: 93,6%-100%)

## REPRODUCIBILITE

La reproductibilité intra-essai a été évaluée. 5 réplicats d'un contrôle positif fort et d'un contrôle positif faible pour le Norovirus GI ainsi que d'un contrôle positif fort et d'un contrôle positif faible pour le Norovirus GII ont été évalués sur ImmunoCard STAT! Norovirus simultanément. La ligne **Test** de l'ImmunoCard STAT! Norovirus a montré 100% de reproductibilité pour tous les échantillons, qu'ils soient forts ou faibles, de génotype GI ou GII. 5 réplicats d'un contrôle négatif ont été testés et tous les tests ont été confirmés négatif.

## REACTIVITE CROISEE

La spécificité du test ImmunoCard STAT! Norovirus a été évaluée en utilisant des souches bactériennes et virales de référence dont la liste est donnée ci-dessous.

## Bactéries

Aucune réaction croisée n'a été observée avec les bactéries causant des diarrhées, bactéries de la flore intestinale ou autres bactéries responsables d'infections nosocomiales ou opportunistes listées ( $1 \times 10^8$  UFC/mL):

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (O6)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (O78)	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> (O114)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i> (O126)	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

## Virus

Aucune réaction croisée n'a été observée avec les virus causant des diarrhées tels que :

Adenovirus type 40 ( $1 \times 10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Adenovirus type 41 ( $1 \times 10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Rotavirus A ( $1 \times 10^{5.25}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

## TESTS DE SUBSTANCES INTERFERENTES

Les substances suivantes ont été jugées sans effet sur les résultats de test lorsqu'elles sont présentes dans les selles aux concentrations indiquées.

1. Hémoglobine: l'ajout d'hémoglobine aux selles à des concentrations allant jusqu'à 0,5 g/dL, simulant ainsi des selles sanglantes, n'a pas eu d'effet sur les résultats de test.
2. Injection Intrafat®: Cette émulsion de matières grasses commercialisée (huile de soja 10%, glycérol 2,5%, 1,2% de phospholipides d'œuf) ajoutée aux selles pour simuler des selles grasses, a montré que les concentrations allant jusqu'à 3% n'ont pas eu d'effet sur les résultats de test.



# ImmunoCard STAT! NOROVIRUS

REF

Número de catálogo 757020

IVD

Dispositivo médico de diagnóstico “in vitro”

## INMUNOENSAYO RÁPIDO PARA LA DETECCIÓN DE ANTÍGENOS DE NOROVIRUS EN HECES HUMANAS

### USO PREVISTO

El inmunoensayo de ImmunoCard STAT! Norovirus es una prueba rápida cualitativa para la detección de los antígenos de Norovirus en heces humanas. Los resultados de la prueba son para que sirvan de ayuda en el diagnóstico de la gastroenteritis asociada a Norovirus.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Los Norovirus son una de las principales causas de gastroenteritis aguda, siendo responsables de brotes en ambientes cerrados y concurridos como puedan ser las escuelas, hospitales, residencias geriátricas y barcos de cruceros<sup>1,2,3</sup>. En la población infantil, los Norovirus son la segunda causa más común de gastroenteritis, tras los Rotavirus<sup>4</sup>. Las personas que contraen una infección por norovirus sufren diarreas y dolor abdominal; los vómitos suelen comenzar a las 24-48 horas de la exposición. Los síntomas del Norovirus se prolongan durante uno o dos días, y la mayoría de la gente se recupera totalmente sin tratamiento alguno. Sin embargo, en determinadas personas (sobre todo niños, ancianos y personas aquejadas de una enfermedad subyacente), los vómitos y la diarrea pueden dar como resultado una deshidratación grave que conllevaría la necesidad de atención médica. Los Norovirus son sumamente contagiosos y suelen transmitirse a través de la comida o el agua con contaminación fecal. También puede contraerse la infección al estar en estrecho contacto con una persona infectada. Los brotes de gastroenteritis causados por norovirus son más frecuentes que los brotes debidos a patógenos bacterianos, y pueden ser difíciles de controlar y de larga duración, dado que los Norovirus se transmiten fácilmente debido a su baja dosis infecciosa y a que persisten en el entorno al resistir la desinfección y el tratamiento con cloro. Basándose en su secuencia genómica del cápside (VP1), las cepas de Norovirus humano pueden agruparse en dos genogrupos (GI y GII)<sup>5</sup>.

### PRINCIPIOS BIOLÓGICOS

ImmunoCard STAT! Norovirus detecta la presencia de antígenos de Norovirus en las heces. Las muestras de los pacientes se recogen mediante hisopo (suministrado) y se diluyen en el tubo de diluyente para la muestra. Se mezcla la suspensión y se añaden 3 gotas al punto de muestreo del dispositivo. La muestra moviliza partículas de látex (azules) recubiertas de anticuerpos monoclonales “anti-NV-GI” (genogrupo I de Norovirus) y “anti-NV-GII” (genogrupo II de Norovirus). Esta muestra migra a lo largo de la membrana a través de las líneas de **Prueba** [anticuerpos monoclonales inmovilizados “anti-NV-GI”, “anti-NV-GII” y “anti-NV” (los que reaccionan tanto ante GI como GII)] y de **Control** (inmunoglobulina inmovilizada de conejo anti-ratón). Tras 15 minutos, se observan las zonas de **Prueba** y **Control** para comprobar si existen líneas azules de un lado a otro de la superficie de la membrana. Si hay presencia de Norovirus en la muestra, forma un complejo con el anticuerpo de captura y el conjugado anticuerpos monoclonales-látex que puede apreciarse visualmente como una línea azul en la zona de **Prueba**. Si no hay ninguna línea azul en la zona de **Prueba** indica un resultado negativo. La línea de **Control** sirve de control de procedimiento para garantizar que la muestra ha migrado la distancia adecuada a lo largo de la membrana y que la prueba ha funcionado correctamente.

### REACTIVOS / MATERIALES SUMINISTRADOS

1. **Tarjetas de prueba:** dispositivos envueltos de forma individual en bolsas de papel metalizado que contienen anticuerpos monoclonales inmovilizados “anti-NV-GI” (genogrupo I), “anti-NV-GII” (genogrupo II) y “anti-NV” (genogrupos I y II) (zona de **Prueba**), inmunoglobulina inmovilizada de conejo anti-ratón (zona de **Control**) y anticuerpos monoclonales fijados “anti-NV-GI” y “anti-NV-GII” conjugados con partículas de látex.
2. **Tubo de diluyente de muestra / Tubo de control negativo:** solución neutralizante que contiene surfactante y 0,08% de azida sódica como conservante (400 µl/tubo).
3. **Hisopo:** varillas de aplicación sin esterilizar, de algodón / rayón, para recoger las heces.
4. **Tapones cuentagotas con filtro:** tapones de plástico con cuentagotas y filtro integrado para la filtración y dosificación de la muestra

En la caja exterior figura el número máximo de pruebas que pueden realizarse con este equipo.

## MATERIALES NO SUMINISTRADOS

1. **Control positivo (catálogo de Meridian nº 757001, 1 hisopo):** hisopo de algodón / rayón con antígenos recombinados de Norovirus no infecciosos.
2. **Cronómetro**

## PRECAUCIONES

1. Todos los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro" y estando listos para su uso.
2. La concentración del reactivo, así como los tiempos y temperaturas (15-30 °C) de incubación, se han optimizado para conseguir una mayor sensibilidad y especificidad. Siguiendo estas especificaciones se conseguirán los mejores resultados. Una vez iniciado el ensayo, complete todos los pasos sucesivos sin interrupción.
3. Deben mezclarse a fondo las muestras de heces para asegurarse de que se consigue una muestra representativa antes de realizar el muestreo. No utilice heces secas.
4. Para la recogida de muestras fecales, asegúrese de utilizar los hisopos de algodón / rayón que se suministran en el equipo de ImmunoCard STAT! Norovirus. Estos hisopos se han diseñado específicamente para la recogida de heces y su uso con este equipo. No utilice estos hisopos para ninguna otra aplicación. Use el hisopo para la recogida de las heces que excreta el cuerpo humano. No use hisopos rectales con esta prueba.
5. Es importante diluir las heces como se describe aquí. La excesiva inoculación de heces en el diluyente para la muestra puede causar que se tape el filtro del tapón cuentagotas, no permitiendo la aplicación de la muestra en la tarjeta de prueba. Una cantidad excesiva de muestra recogida puede restringir el movimiento en la tarjeta de prueba provocando un resultado no válido. Si se tapa el filtro del tapón cuentagotas o la membrana de la tarjeta de prueba, vuelva a comenzar desde la recogida de la muestra con un nuevo tubo de diluyente para la muestra, y asegúrese de recoger la cantidad de muestra indicada.
6. Después de añadir las heces al tubo de diluyente para la muestra, ajuste bien el tapón cuentagotas y realice la prueba de forma inmediata, sin perder tiempo.
7. En el caso de heces oscuras, la membrana de la tarjeta de prueba puede oscurecerse, dificultando la lectura de los resultados.
8. Las muestras de los pacientes y las tarjetas de prueba de ImmunoCard STAT! Norovirus usadas pueden contener agentes infecciosos, por lo que deberían manipularse y desecharse como potencial material de riesgo biológico.
9. Guarde los componentes del equipo a 2-30 °C, evitando su exposición directa a la luz solar. No congelar.
10. No utilice este equipo una vez vencida su fecha de caducidad. No intercambie reactivos con números diferentes de lote de equipo.
11. Deje que los componentes del equipo y las muestras alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de realizar la prueba; dado que los reactivos o las muestras, o ambos, si están fríos, pueden disminuir la sensibilidad del ensayo. Puede que los reactivos necesiten 20-30 minutos para calentarse después de haber estado refrigerados.
12. Antes de realizar la prueba, verifique que los hisopos, tarjetas de prueba, tubos de diluyente para la muestra y tapones cuentagotas con filtro no presentan daños ni anomalía alguna. No los utilice si presentan daños.
13. Si el diluyente para la muestra presenta burbujas de aire en el fondo del tubo, golpee suavemente el tubo contra un banco para eliminarlas antes de retirar la etiqueta adhesiva de aluminio.
14. Al aplicar la muestra en la tarjeta de prueba, sostenga el tubo de diluyente para la muestra verticalmente para asegurar que las gotas sean del tamaño adecuado.
15. Deben leerse atentamente las instrucciones antes de realizar prueba alguna.

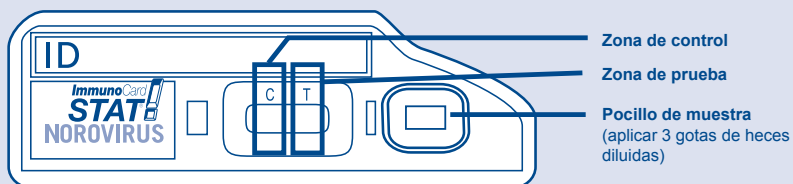
## VIDA ÚTIL Y ALMACENAMIENTO

Se indica la fecha de caducidad en la etiqueta del equipo. Los componentes del equipo deberán usarse antes de la fecha de caducidad.

Almacene el equipo a una temperatura de 2-30 °C.

## NOTAS ACERCA DEL PROCEDIMIENTO

1. El siguiente diagrama muestra la tarjeta de prueba de ImmunoCard STAT! Norovirus
2. Es posible procesar las muestras por grupos siempre que se respete el tiempo correcto de incubación de cada dispositivo.
3. La zona de Control de cada dispositivo es un control de procedimiento para verificar que las muestras y el flujo sean adecuados, así como la ejecución del reactivo.



## PREPARACIÓN DEL REACTIVO

1. Todos los reactivos están listos para su uso (no son necesarias más diluciones).
2. Deje que los componentes del equipo alcancen la temperatura ambiente (15-30 °C) antes de utilizarlos si han estado guardados en un refrigerador.
3. Una vez extraída la tarjeta de prueba de su bolsa, o tras retirar la etiqueta adhesiva de aluminio del tubo de diluyente para la muestra, deberán usarse inmediatamente.
4. Dependiendo del número de muestras con las que deban realizarse la prueba, prepare el número adecuado de hisopos necesarios para recogerlas, así como la cantidad requerida de tubos de diluyente para la muestra, taponos cuentagotas con filtro y tarjetas de prueba.

## RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

Para obtener los mejores resultados, deben recogerse las muestras tan pronto como sea posible tras la aparición de los primeros síntomas. La concentración de Norovirus en las heces alcanza su grado máximo 1-4 días tras la aparición de los primeros síntomas. NO UTILICE heces recogidas en preservativos u otros medios.

Las muestras de heces podrán recogerse mediante el método utilizado habitualmente por el laboratorio, siempre que no se diluya la muestra. Puede recogerse la muestra en un contenedor limpio y vacío.

Deberá realizarse la prueba con la muestra tan pronto como sea posible tras su recogida; aunque puede guardarse hasta 24 horas a 2-8 °C antes de la prueba.

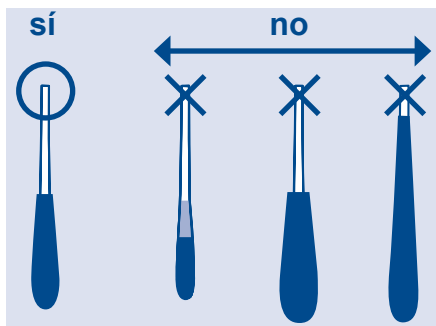
Si no puede realizarse la prueba siguiendo estas indicaciones temporales, deberá congelarse la muestra en un congelador que no descongele (-20 °C o menos) hasta el momento de realización de la prueba.

## REALIZACIÓN DE LA PRUEBA

**Esta prueba la deberá realizar personal cualificado conforme a las regulaciones locales aplicables.**

**Nota: Todos los componentes deberán estar a 15-30 °C antes de su uso.**

1. Retire la etiqueta adhesiva de aluminio del tubo de diluyente para la muestra.
  2. Dilución de la muestra: recoja la muestra de heces con el hisopo suministrado con el equipo tal y como se muestra en el siguiente diagrama. No se han validado hisopos de otros fabricantes.
- **Heces acuosas:** para recogerlas, empape a fondo el hisopo de forma que cubran toda la superficie de algodón / rayón.
  - El hisopo de algodón / rayón debería absorber las heces tal y como muestra el diagrama.
  - **Heces sólidas o sueltas:** recoja una cantidad suficiente para cubrir ligeramente la superficie de algodón / rayón del hisopo y rote el hisopo unas cuantas veces.



3. Coloque el hisopo inmediatamente en el tubo de diluyente para la muestra.
4. Mezcle con brío la solución rotando el hisopo contra la pared del tubo de diluyente para la muestra.
5. Libere tanto líquido como sea posible del hisopo exprimiendo los laterales del tubo al retirar el hisopo. Descarte el hisopo.
6. Encaje bien el tapón cuentagotas con filtro al tubo de diluyente para la muestra.
7. Retire la tarjeta de prueba de la bolsa. Etiquete de forma adecuada. Use una tarjeta para cada muestra o control.
8. Ponga el tubo boca abajo y deje caer 3 gotas de muestra diluida en el **pocillo de muestra** (indicado mediante una flecha) de la tarjeta de prueba.
9. Incubar durante 15 minutos a 15-30 °C.

**NOTA:** Durante los 15 minutos de incubación, la muestra diluida deberá moverse más allá de la zona de **Control**.

- Al final del período de incubación, lea inmediatamente las zonas de **Control** y **Prueba** para detectar la presencia o ausencia de una línea azul.

### PRUEBAS DE CONTROL EXTERNAS

El **hisopo de control positivo** (catálogo de Meridian nº 757001) y el **diluyente para la muestra / control negativo** se han creado para realizar un control de calidad externo tal y como se informa en la sección CONTROL DE CALIDAD.

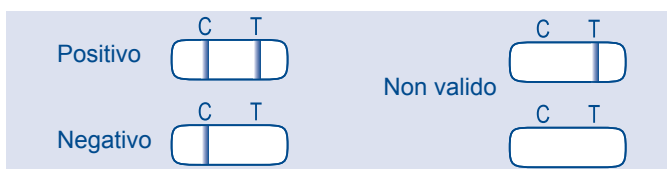
**Prueba de control positivo:** tras retirar el hisopo de control positivo de la bolsa, colocarlo inmediatamente en un tubo de diluyente para la muestra. Continúe igual que lo haría con una muestra de un paciente, según las instrucciones del punto 4 de la sección REALIZACIÓN DE LA PRUEBA.

**Prueba de control negativo:** retire el sello de aluminio de un tubo de diluyente para la muestra. Continúe igual que lo haría con una muestra de un paciente, según las instrucciones del punto 6 de la sección REALIZACIÓN DE LA PRUEBA.

El control positivo debe dar como resultado unas líneas azules claramente visibles de **Prueba** y **Control**.

El control negativo debe dar como resultado una línea azul claramente visible de **Control**. No debería haber ninguna línea de **Prueba**.

### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS



**Resultado positivo de la prueba:** líneas azules claramente visibles de **Prueba** y **Control**. El color de la banda de "Test" puede variar desde un azul tenue a fuerte. Un resultado positivo indica la presencia de antígenos de Norovirus.

**Resultado negativo de la prueba:** línea azul claramente visible de **Control**. No hay ninguna línea de **Prueba**. Un resultado negativo indica la ausencia de antígenos de Norovirus, o que se hallan en una cantidad imposible de detectar.

**Resultado no válido de la prueba:** no hay una línea azul claramente visible de **Control**, con o sin una línea azul claramente visible de **Prueba**.

Los resultados no válidos de la prueba pueden haber sido causados por un problema en el reactivo / la tarjeta, un error durante la realización o una inoculación excesiva de heces en el diluyente para la muestra durante la dilución de la muestra. Volver a diluir las heces y repetir la prueba.

### CONTROL DE CALIDAD

En el momento de su uso, deberán examinarse visualmente los componentes del equipo para detectar señales obvias de contaminación microbiana, congelación o fugas. No utilice reactivos contaminados o deteriorados.

#### 1. Control interno

Se incluye en cada tarjeta de prueba un control interno de procedimiento, por lo que se evalúa con cada prueba. La línea azul de control sirve como control de procedimiento interno e indica que la prueba se ha realizado correctamente, que se ha dado un flujo adecuado y que los reactivos de la prueba reaccionaron en el momento de su uso.

#### 2. Controles externos

Los controles externos (positivos y negativos) están destinados a supervisar la reactividad de los reactivos y deberían verificarse conforme a los requisitos de laboratorio o a las regulaciones locales o nacionales aplicables. Se recomienda, a tal efecto, el uso del control positivo (catálogo de Meridian nº 757001) y control negativo (tubo de diluyente para la muestra). El Control Positivo y Negativo puede ser probado una vez se recibe el equipo. De manera que, el control de procedimiento que se realiza con cada prueba es suficiente para verificar la integridad de los reactivos y la ejecución del ensayo.

Si los controles no dan los resultados esperados, eso puede significar que uno de los reactivos o componentes ha dejado de reaccionar en el momento de su uso, que la prueba no se realizó correctamente o que no se añadieron los reactivos o muestras. Véase la sección PRUEBAS DE CONTROL EXTERNAS para obtener instrucciones acerca de cómo realizar estas pruebas de control. Las reacciones positivas y negativas se describen en la sección INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS. El reactivo de control negativo debería dar como resultado una línea azul de control sin líneas de prueba. Un control positivo contiene antígenos de norovirus y se espera que dé como resultado una línea azul de control y una línea azul de prueba.

Si no se observan las reacciones de control esperadas, hay que repetir las pruebas de control como un primer paso para determinar la causa del fallo. Si se vuelven a dar los fallos de control, le rogamos se ponga en contacto con su distribuidor local para que le proporcione asistencia técnica.

## VALORES ESPERABLES

La prueba ImmunoCard STAT! Norovirus detecta la presencia de antígenos de Norovirus en las heces. Los valores esperables para una determinada población deberán determinarse según cada laboratorio. La tasa de positividad puede variar dependiendo de la edad y ubicación geográfica del paciente, la estación, el método de recogida de la muestra, así como su manipulación y transporte, entorno de salud general de la población de pacientes estudiados y genotipo circulante de Norovirus. Se identifican a los Norovirus como una causa importante de brotes agudos no bacterianos de gastroenteritis en cualquier grupo de edad. En los niños, los Norovirus son la segunda causa más común de gastroenteritis tras el Rotavirus. Se han documentado brotes de Norovirus en escenarios muy diversos; sobre todo en comunidades semi-cerradas como puedan ser las familias, las escuelas, las residencias geriátricas, los hospitales, hoteles y barcos para cruceros. Se ha identificado también a este virus en casos esporádicos de gastroenteritis. Mientras que la mayoría de los brotes siguen un esquema estacional, los casos esporádicos suelen darse en cualquier época del año<sup>6</sup>.

## LIMITACIONES DE ESTE PROCEDIMIENTO

1. ImmunoCard STAT! Norovirus ha sido diseñado específicamente para detectar antígenos de Norovirus en heces. Como en cualquier otro procedimiento de diagnóstico "in vitro", los resultados de la prueba debería interpretarlos un médico junto con el resto de la información clínica.
2. Un resultado positivo no descarta la presencia de otros organismos infecciosos.
3. No realice la prueba con meconio ni con heces recogidas de neonatos (un mes o menos de edad); dado que puede generarse un falso positivo.
4. Si no se añaden suficientes heces al diluyente para la muestra, puede generarse un falso negativo. Si se añaden demasiadas heces, el resultado de la prueba puede ser no válido debido a la inhibición del flujo adecuado de la muestra.
5. No se recomienda utilizar heces recogidas después de aplicar un enema, dado que no se ha evaluado cómo puede afectar este factor a los resultados. Las muestras de heces obtenidas tras ingerir alimentos que contengan agentes gelatinizantes para facilitar la deglución podrían interferir con la prueba, por lo que no se recomiendan.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS

La prueba ImmunoCard STAT! Norovirus se evaluó en 196 muestras fecales de personas sanas y pacientes con síntomas de gastroenteritis. Se realizó la prueba en todas las muestras con ImmunoCard STAT! Norovirus y se comparó con RT-PCR como prueba de referencia. Un total de 98 muestras de heces dieron un resultado positivo con RT-PCR en cuanto a la presencia de Norovirus, y 98 muestras de heces dieron un resultado negativo con la misma prueba.

Los resultados de la prueba fueron los siguientes:

Comparación de ImmunoCard STAT! Norovirus con RT-PCR (n=196)

		RT-PCR	
		+	-
ImmunoCard STAT! Norovirus	+	80	3
	-	18	95
	Total	98	98

Sensibilidad: 81,6% (95% intervalo de confianza 73,9%-89,3%)

Especificidad: 96,9% (95% intervalo de confianza 93,5%-100%)

Valor Predictivo Negativo (VPN): 84,4% (95% intervalo de confianza 77,2%-91,6%)

Valor Predictivo Positivo (VPP): 97,0% (95% intervalo de confianza 93,6%-100%)

## REPRODUCIBILIDAD

Se ha evaluado la reproducibilidad intraserie. Se ha verificado un control positivo claro y otro menos claro para el genogrupo I del Norovirus, así como un control positivo claro y otro menos claro para el genogrupo II del Norovirus, con ImmunoCard STAT! Norovirus, cada uno de ellos en cinco pruebas simultáneas. La línea de la **Prueba** del dispositivo ImmunoCard STAT! Norovirus mostró una reproducibilidad del 100% con las muestras positivas (claras y menos claras) tanto con el genogrupo I como con el genogrupo II, en todas las pruebas. Se ha verificado una muestra con control negativo en cinco pruebas simultáneas y todos los resultados de las pruebas se confirmaron que eran negativos.

## REACTIVIDAD CRUZADA

La prueba ImmunoCard STAT! Norovirus se evaluó en términos de especificidad usando las cepas bacterianas y virales de referencia que se incluyen a continuación.

### Bacterias

No se observó reactividad cruzada con las siguientes bacterias causantes de diarrea, bacterias de flora intestinal y otras bacterias causantes de infecciones nosocomiales u oportunistas ( $1 \times 10^8$  UFC/mL):

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (O6)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (O78)	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> (O114)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i> (O126)	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

### Virus

No se observó reactividad cruzada con los siguientes virus causantes de diarrea;

Adenovirus type 40 ( $1 \times 10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Adenovirus type 41 ( $1 \times 10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Rotavirus A ( $1 \times 10^{5.25}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

## PRUEBAS PARA DETECTAR INTERFERENCIAS DE SUSTANCIAS

Se determinó que las siguientes sustancias no afectan a los resultados cuando se presentan en las heces en las concentraciones indicadas.

1. Hemoglobina: las pruebas con hemoglobina añadida para simular heces sanguinolentas demostraron que una concentración de hasta 0,5 g/dL no tenía efecto alguno en los resultados de la prueba.
2. Inyección de Intrafat®: si se añade esta emulsión grasa comercializada (aceite de soja 10%, 2,5% de glicerina, 1,2% de fosfátido de huevo) a las heces para simular unas heces grasientas, se demuestra que una concentración de hasta un 3% no tenía efecto alguno sobre los resultados de la prueba.





# ImmunoCard STAT! NOROVIRUS

**REF** Bestellnummer 757020

**IVD** In-vitro-Diagnostikum

## SCHNELLES IMMUNOASSAY ZUM NACHWEIS VON NOROVIRUS-ANTIGENEN IM MENSCHLICHEN STUHL

### BEABSICHTIGTE NUTZUNG

Das ImmunoCard STAT! Norovirus-Immunoassay ist ein *in-vitro* Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Norovirus-Antigenen im menschlichen Stuhl. Die Testergebnisse sollen bei der Diagnose einer Gastroenteritis in Verbindung mit dem Norovirus helfen.

### ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG DES TESTS

Noroviren sind die wesentliche Ursache von akuter Gastroenteritis, sie sind für die Ausbrüche in geschlossenen und belebten Umgebungen wie z.B. Schulen, Krankenhäusern, Pflegeheimen und Kreuzfahrtschiffen<sup>1,2,3</sup> verantwortlich. Bei Kindern sind Noroviren nach dem Rotavirus<sup>4</sup> die zweithäufigste Ursache für Gastroenteritis. Normalerweise entwickeln Menschen mit einer Noroviren-Infektion Diarrhoe und Bauchschmerzen und fangen innerhalb von 24 bis 48 Stunden an zu brechen. Die Symptome des Norovirus halten einen oder zwei Tage an und die meisten Menschen erholen sich ohne jegliche Behandlung. Insbesondere Kinder, ältere Menschen und Menschen mit Grundleiden, Erbrechen und Diarrhoe können ernsthaft dehydriert werden und erfordern ärztliche Behandlung. Noroviren sind hoch ansteckend und werden im Allgemeinen durch Essen oder Wasser verbreitet, die durch Fäkalien verunreinigt wurden. Die Infektion kann sich ebenso durch den engen Kontakt mit einer infizierten Person übertragen. Durch Noroviren bedingte Ausbrüche von Gastroenteritis sind häufiger als Ausbrüche aufgrund von bakteriellen Erregern, können nur schwer kontrolliert werden und halten lange an, da Norovirus aufgrund der geringen infektiösen Dosis übertragen wird, sehr ausdauernd ist und resistent gegen Desinfektion und Chlorieren ist. Aufgrund ihrer Kapsidgenesequenz (VP1) können menschliche NV-Stämme in zwei Genogruppen (GI und GII)<sup>5</sup> unterteilt werden.

### BIOLOGISCHE GRUNDSÄTZE

Das ImmunoCard STAT! Norovirus-Immunoassay erkennt die Gegenwart von Norovirus-Antigenen im Stuhl. Die mit dem beiliegenden Tupfer eingeholte Patientenprobe wird im Probenverdünnungsröhrchen verdünnt. Die Suspension wird vermischt und 3 Tropfen werden in die **Probenöffnung** der Vorrichtung gegeben. Die Probe vermischt sich mit Latexpartikeln (blau), die mit monoklonalen Antikörpern Anti-NV-GI (Norovirus Genogruppe I) und Anti-NV-GII (Norovirus Genogruppe II) beschichtet sind und migriert entlang der Membran durch die **Test-** [immobilisierte monoklonale Antikörper Anti-NV-GI, Anti-NV-GII und Anti-NV (das sowohl mit GI als auch GII reagiert)] und **Kontroll-** (immobilisiertes Kaninchen-anti-Maus-Immunglobulin)-Linien. Nach 15 Minuten werden die **Test-** und **Kontrollzonen** auf Gegenwart von blauen Linien auf der Membranoberfläche geprüft. Falls Norovirus in der Probe vorhanden ist, bildet es einen Komplex mit dem Capture-Antikörper und den Latexpartikeln, die mit monoklonalen Antikörpern beschichtet sind, was visuell als eine blaue Linie in der **Testzone** erkennbar ist. Das Fehlen der blauen Linie in der **Testzone** weist auf ein negatives Ergebnis hin. Die **Kontrolllinie** dient als verfahrenstechnische Kontrolle und stellt sicher, dass die Probe die angemessene Entfernung entlang der Membran migriert ist und der Test funktioniert hat.

### REAGENZIEN/MATERIALIEN BELIEGEND

1. **Testkarten:** einzeln in Folie verpackte Vorrichtungen, die monoklonale Antikörper Anti-NV-GI (Genogruppe I), Anti-NV-GII (Genogruppe II) und Anti-NV (Genogruppe I und II) (**Testzone**), immobilisiertes Kaninchen-anti-Maus-Immunglobulin (**Kontrollzone**) und eingebettete monoklonale Antikörper Anti-NV-GI und Anti-NV-GII verbunden zu Latexpartikeln enthalten.
2. **Probenverdünnungspuffer/Negative Kontrolle Röhrchen:** Pufferlösung mit Netzmittel und 0,08 Natriumazid als Konservierungsmittel (400 µl/Röhrchen)
3. **Tupfer:** nicht sterilisierte Baumwoll-/Rayon Auftragestäbchen für Stuhlprobe
4. **Tropfkappe mit Filter:** Plastikappen mit Tropf- und integriertem Filter zur Probenfiltration und Ausgeben  
*Die maximale Zahl der mit diesem Testkit durchführbaren Tests ist auf der äußeren Schachtel angegeben.*

### NICHT BELIEGENDES MATERIAL

1. **Positivkontrolle (Katalog Meridian # 757001, 1 Tupfer):** Baumwolle-/Rayon Tupfer mit rekombinanten, nicht infektiöser Norovirus-Antigenen.
2. **Schaltuhr**

## VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Sämtliche Reagenzien sind ausschließlich für die In-vitro-Diagnostik bestimmt und sind anwendungsbereit.
2. Die Reagenzkonzentration, die Inkubationszeiten und –temperaturen (15-30°C) wurden hinsichtlich der Empfindlichkeit und der Spezifität optimiert. Die besten Ergebnisse werden durch Beachten dieser Eigenheiten erhalten. Nach Testbeginn müssen die folgenden Schritte ohne Unterbrechung durchgeführt werden.
3. Stuhlproben müssen gründlich vermengt werden, um vor der Probenahme eine repräsentative Probe sicherzustellen. Verwenden Sie keinen ausgetrockneten Stuhl.
4. Zum Einholen einer Stuhlprobe müssen die dem ImmunoCard STAT! Norovirus-Kit beiliegenden Baumwoll-/Rayon Tupfer verwendet werden. Diese Tupfer dienen speziell der Stuhlentnahme und der Verwendung mit diesem Test. Diese Tupfer dürfen für keine sonstige Anwendung verwendet werden. Verwenden Sie den Tupfer zum Einholen des aus dem Körper ausgeschiedenen Stuhls. Verwenden Sie keine Rektaltupfer für diesen Test.
5. Die Verdünnung des Stuhls muss wie beschrieben erfolgen. Übermäßige Inokulation des Stuhls im Probenverdünnungspuffer kann den Filter in der Tropfkappe verstopfen und eine Applikation der Probe auf die Testkarte verhindern. Eine exzessive Menge der eingeholten Probe kann die Bewegung in der Testkarte einschränken und somit ein ungültiges Ergebnis hervorbringen. Falls der Filter in der Tropfkappe oder die Membran in der Testkarte verstopft, holen Sie eine neue Probe in einem neuen Probenverdünnungsröhrchen ein und stellen Sie sicher, die angegebene Menge der Probe einzuholen.
6. Nach Zugabe der Stuhlprobe in das Probenverdünnungsröhrchen schließen Sie die Tropfkappe gut und testen sofort ohne Verzögerung.
7. Ein dunkler Stuhl kann die Testkartmembran färben und das Ablesen der Ergebnisse erschweren.
8. Patientenproben und gebrauchte ImmunoCard STAT! Norovirus-Testkarten können infektiöse Erreger enthalten und sollten als möglicher biologischer Gefahrenstoff entsorgt werden.
9. Lagern Sie die Testbestandteile bei 2-30°C, nicht dem direkten Sonnenlicht aussetzen. Nicht einfrieren.
10. Der Test darf nicht nach dem Verfallsdatum verwendet werden. Die Reagenzien aus Testkits verschiedener Chargennummern NICHT gegeneinander austauschen.
11. Die Testbestandteile und Proben sollten vor Durchführung eines Tests Raumtemperatur (15-30°C) angenommen haben, da kalte Reagenzien und/oder Proben die Empfindlichkeit des Assay mindern könnten. Die Reagenzien müssen sich nach der Kühlung 20-30 Minuten lang erwärmen.
12. Vor Durchführung des Tests sollten Sie prüfen, dass die Tupfer, Testkarten, Probenverdünnungsröhrchen und Tropfkappen mit Filter nicht beschädigt oder ungewöhnlich sind. Bei Beschädigung nicht verwenden.
13. Falls das Probenverdünnungspuffer Luftblasen am Boden des Röhrchens aufweist, klopfen Sie das Röhrchen leicht gegen eine Arbeitsfläche, um die Blasen zu entfernen, bevor Sie den Aluminiumaufkleber entfernen.
14. Bei Auftragen der Probe auf die Testkarte muss das Probenverdünnungsröhrchen senkrecht gehalten werden, um die richtige Tropfgröße zu garantieren.
15. Die Testanweisungen sollten vor Durchführung eines Tests sorgfältig gelesen werden.

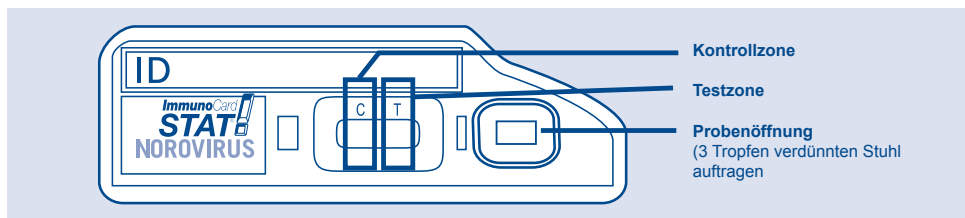
## HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Das Verfallsdatum ist auf dem Etikett des Kits angegeben. Die Testbestandteile müssen vor Ablauf des Datums verwendet werden.

Lagern Sie den Test bei 2-30°C.

## VERFAHRENSTECHNISCHE HINWEISE

1. Die ImmunoCard STAT! Norovirus-Testkarte ist in dem folgenden Diagramm dargestellt.
2. Die Stapelverarbeitung der Proben ist möglich, falls die richtige Inkubationszeit für jede Probe gewahrt wird.
3. Die **Kontrollzone** für jede Probe ist eine verfahrenstechnische Kontrolle zum Testen der richtigen Strömungseigenschaften der Probe und des Reagenz sowie der Reagenzergebnisse.



## REAGENZVORBEREITUNG

1. Alle Reagenzien sind bereit zur Anwendung (keine Verdünnung mehr erforderlich).
2. Nach Lagerung des Tests in einem Kühlschrank, sollten die Testbestandteile vor Verwendung Raumtemperatur angenommen haben (15-30°C).
3. Nach Entfernen der Testkarte aus der Folie oder Entfernen des Aluminiumaufklebers vom Probenverdünnungsröhrchen, muss diese sofort verwendet werden.

4. Je nach Anzahl der zu testenden Proben muss die jeweilige Anzahl an Tupfern zum Einholen der Probe vorbereitet werden, sowie auch die Probenverdünnungsröhrchen, die Tropfkappen mit Filter und die Testkarten vorbereitet werden müssen.

### PROBEENTNAHME UND ABWICKLUNG

Die besten Ergebnisse werden bei kurzfristiger Entnahme der Proben nach Auftreten der Symptome erzielt, die Norovirus-Konzentration im Stuhl ist 1-4 Tage nach Auftreten der Symptome am höchsten. Stuhl NICHT in Transportmedien oder Konservierungsmitteln VERWENDEN.

Stuhlproben können entsprechend der vom Labor normalerweise verwendeten Methode entnommen werden, falls keine Verdünnung der Proben erfolgt. Die Probe kann in einen sauberen, leeren Behälter gegeben werden.

Die Probe sollte nach der Entnahme so bald wie möglich getestet werden, kann jedoch vor dem Testen bei 2-8°C bis zu 24 Stunden gelagert werden,

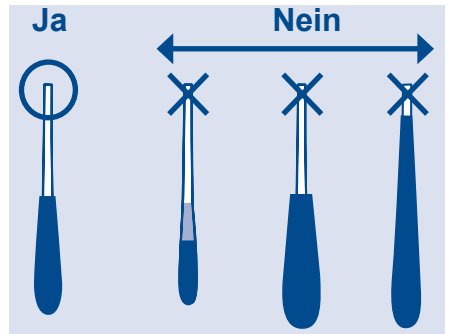
Falls der Test nicht innerhalb dieses Zeitraums durchgeführt werden kann, sollte die Probe vor dem Test in einem nicht abtauenden Gefrierschrank (-20°C oder weniger) eingefroren werden,

### TESTVERFAHREN

**Dieser Test sollte von qualifiziertem Personal entsprechend der geltenden lokalen behördlichen Anforderungen durchgeführt werden.**

**Hinweis: Alle Bestandteile müssen vor Verwendung eine Temperatur von 15-30°C aufweisen.**

1. Entfernen Sie den Aluminiumaufkleber vom Probenverdünnungsröhrchen.
  2. Probeverdünnung:  
entnehmen Sie die Stuhlprobe mit dem im Kit enthaltenen Tupper, wie in dem folgenden Diagramm dargestellt. Tupper anderer Lieferanten wurden nicht geprüft.
- **Wässriger Stuhl:** sorgfältig entnehmen und über die gesamte Baumwoll-/Rayonfläche einweichen lassen.
  - **Fester oder loser Stuhl:** geringe Entnahme, damit die Baumwoll-/Rayonfläche bedeckt ist, und drehen Sie den Tupper einige Male.
  - Der Stuhl sollte, wie im Diagramm dargestellt, vom Baumwoll-/Rayon-Tupper absorbiert sein.



3. Geben Sie den Tupper sofort in das Probenverdünnungsröhrchen.
4. Mischen Sie die Lösung durch kräftiges Drehen des Tupfers gegen die Seitenwand des Probenverdünnungsröhrchens.
5. Den Tupper beim Entnehmen an die Röhrchenwand drücken, um so viel Flüssigkeit wie möglich auszupressen. Den Tupper entsorgen.
6. Bringen Sie die Tropfkappe mit Filter fest auf dem Probenverdünnungsröhrchen an.
7. Entnehmen Sie die Testkarte aus der Folie. Kennzeichnen Sie die Probe. Nur eine Karte pro Probe oder Kontrolle verwenden.
8. Drehen Sie das Röhrchen um und geben Sie 3 Tropfen der verdünnten Probe in die **Probenöffnung** (siehe Pfeil) der Testkarte.
9. 15 Minuten bei 15-30°C inkubieren.
10. HINWEIS: Während der 15-minütigen Inkubation müssen die verdünnten Proben sich hinter die **Kontrollzone** bewegen.
11. Am Ende der Inkubationszeit sofort die Kontroll- und Testzonen ablesen, ob sie blaue Linien aufweisen.

## EXTERNE KONTROLLTESTS

**Positivkontrolltupfer** (Katalog Meridian # 757001) und **Probenverdünnungspuffer/Negativkontrolle** dienen der externen Prüfung der Qualitätskontrolle, wie in Abschnitt QUALITÄTSKONTROLLE angegeben.

**Positivkontrolltest:** nach Entfernen des Positivkontrolltupfers aus der Folie muss dieser direkt in das Probenverdünnungsröhrchen gegeben werden. Weiter wie für eine Patientenprobe wie in Punkt 4 des Abschnitts TESTVERFAHREN angegeben.

**Negativkontrolltest:** Entfernen Sie den Aluminiumaufkleber vom Probenverdünnungsröhrchen. Weiter wie für eine Patientenprobe wie in Punkt 6 des Abschnitts TESTVERFAHREN angegeben.

Die Positivkontrolle sollte visuell erkennbare blaue **Test-** und blaue **Kontroll**linien aufweisen.

Die Negativkontrolle sollte eine visuell erkennbare blaue **Kontroll**linie aufweisen. Es sollte keine **Test**linie vorhanden sein.

## AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE



**Positives Testergebnis:** Visuell erkennbare blaue **Test-** und **Kontroll**linien. Die Ausbildung einer Testlinie weist (selbst bei sehr schwacher Ausprägung) auf das Vorliegen von Norovirus-Antigenen hin.

**Negatives Testergebnis:** Visuell erkennbare blaue **Kontroll**linie. Es ist keine **Test**linie vorhanden. Ein negatives Ergebnis zeigt an, dass keine Norovirus-Antigene vorhanden sind oder mengenmäßig zu gering sind, um erkannt werden zu können.

**Ungültiges Testergebnis:** keine visuell erkennbare blaue **Kontroll**linie, mit oder ohne visuell erkennbare blaue **Test**linie.

Ungültige Ergebnisse können aufgrund eines Problems des Reagenzes/der Karte, eines Verfahrensfehler oder einer übermäßigen Inokulation des Stuhls im Probenverdünnungspuffer während der Probenverdünnung auftreten. Verdünnen Sie den Stuhl erneut und wiederholen Sie den Test.

## QUALITÄTSKONTROLLE

Vor jedem Gebrauch sollten die Testbestandteile visuell auf offensichtliche Anzeichen mikrobieller Kontamination, Erfrieren oder Undichte überprüft werden. Keine kontaminierten oder verdorbenen Reagenzien verwenden.

### 1. Interne Kontrolle

Eine interne verfahrenstechnische Kontrolle ist in jeder Testkarte beinhaltet und somit bei jedem Test ausgewertet. Eine blaue Kontrolllinie dient der internen verfahrenstechnischen Kontrolle und zeigt an, dass der Test richtig ausgeführt wurde, dass ein angemessener Fluss erfolgte und die Testreagenzien zum Zeitpunkt der Verwendung reaktiv waren.

### 2. Externe Kontrollen

Externe (positive und negative) Kontrollen dienen zur Überprüfung der Reagenzreaktivität und sollten entsprechend der Anforderungen des Labors oder der zuständigen lokalen, staatlichen oder nationalen Akkreditierungsbehörden getestet werden. Zu diesem Zweck wird die Verwendung der Positivkontrolle (Katalog Meridian # 757001) und der Negativkontrolle (Probenverdünnungsröhrchen) empfohlen. Die Positiv- und Negativkontrollen sollten nach Erhalt des Kits getestet werden. Danach ist die verfahrenstechnische Kontrolle, die bei jedem Test durchgeführt wird, ausreichend zur Prüfung der Vollständigkeit des Reagenz und der Assay-Reaktivität.

Falls die Kontrollen nicht die erwarteten Ergebnisse liefern, bedeutet dies eventuell, dass eines der Reagenzien oder Bestandteile zum Zeitpunkt der Verwendung nicht mehr reaktiv war, der Test nicht richtig durchgeführt wurde oder dass keine Reagenzien oder Proben hinzugefügt wurden. Anweisungen zur Durchführung dieser Kontrolltests finden Sie im Abschnitt EXTERNE KONTROLLTESTS. Positive und negative Reaktionen sind im Abschnitt AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE beschrieben. Das negative Kontrollreagenz sollte eine blaue Kontrolllinie ohne Testlinien hervorbringen. Die Positivkontrolle enthält Norovirus-Antigene und sollte eine blaue Kontrolllinie und eine blaue Testlinie hervorbringen.

Falls die erwarteten Kontrollreaktionen nicht erfolgen, wiederholen Sie die Kontrolltests als ersten Schritt, indem Sie die Ursache des Fehlers ermitteln. Falls die Kontrollfehler wiederholt werden, sollten Sie Ihren Händler vor Ort um technische Hilfe bitten.

## ERWARTETE WERTE

Der ImmunoCard STAT! Norovirustest erkennt die Gegenwart von Norovirus-Antigenen im Stuhl. Die erwarteten Werte für eine jeweilige Population sollte für jedes Labor festgelegt werden. Die Positivitätsrate kann je nach Alter des Patienten, geographischer Lage, Jahreszeit, Art der Probeentnahme, Bearbeitung oder Transport, dem allgemeinen Gesundheitsumfeld, dem untersuchten Patientenbestand und dem umlaufenden Norovirus-Genotyps variieren. Noroviren sind als wichtige Ursache akuter, nicht bakterieller Ausbrüche von Gastroenteritis in allen Altersgruppen bekannt. Bei Kindern sind Noroviren nach dem Rotavirus die zweithäufigste Ursache für Gastroenteritis. Ausbrüche von Noroviren sind in zahlreichen Umgebungen bekannt, insbesondere in mehr oder weniger geschlossenen Gemeinschaften wie Familien, Schulen, Alterheimen, Krankenhäusern, Hotels und Kreuzfahrtschiffen bekannt. Zudem wurde der Virus in sporadischen Fällen von Gastroenteritis erkannt. Während die meisten der Ausbrüche zu bestimmten Jahreszeiten erfolgen, erfolgen sporadische Fälle über das gesamte Jahr.

## EINSCHRÄNKUNGEN DES VERFAHRENS

1. ImmunoCard STAT! Norovirus dient speziell der Erkennung von Norovirus-Antigenen im Stuhl. Wie bei allen *In-Vitro*-Diagnoseverfahren sollten die Testergebnisse von einem Arzt in Zusammenhang mit zusätzlichen klinischen Informationen interpretiert werden.
2. Ein positives Ergebnis schließt nicht die Gegenwart anderer infektiöser Organismen aus.
3. Mekoniumstuhl oder von Neugeborenen (ein Monat oder jünger) entnommener Stuhl sollte nicht getestet werden, da dies zu falschen positiven Ergebnissen führen kann.
4. Falls nicht genügend Stuhl in den Probenverdünnungspuffer gegeben wird, kann ein falsches negatives Testergebnis entstehen. Die Zugabe von zu viel Stuhl kann aufgrund der Hemmung des richtigen Probeflusses zu ungültigen Testergebnissen führen.
5. Nach Darmspülung entnommener Stuhl ist nicht empfehlenswert, da die Leistungseigenschaften noch nicht ausgewertet sind und seine Verwendung die Testergebnisse verfälschen könnte. Eine nach der Einnahme von Nahrungsmitteln mit Geliermitteln zur Schluckerleichterung entnommene Stuhlprobe kann den Test beeinflussen und wird nicht empfohlen.

## SPEZIFISCHE LEISTUNGSDATEN

Der ImmunoCard STAT! Norovirustest wurde anhand von 196 Fäkalienproben von gesunden Personen und Patienten mit Symptomen von Gastroenteritis ausgewertet. Alle Proben wurden mit ImmunoCard STAT! Norovirus getestet und mit RT-PCR als Referenztest verglichen. Insgesamt 98 Stuhlproben hatten mit RT-PCR ein positives Ergebnis hinsichtlich der Gegenwart von Norovirus, und 98 Stuhlproben wurden von RT-PCR negativ getestet.

Diese Testergebnisse sind in der folgenden Tabelle festgehalten:

Vergleich von ImmunoCard STAT! Norovirus mit RT-PCR (n=196)

		RT-PCR	
		+	-
ImmunoCard STAT! Norovirus	+	80	3
	-	18	95
	Insgesamt	98	98

Empfindlichkeit: 81.6% (95% Konfidenzintervall 73.9%-89.3%)

Spezifität: 96.9% (95% Konfidenzintervall 93.5%-100%)

Negativer Vorhersagewert (NV): 84.4% (95% Konfidenzintervall 77.2%-91.6%)

Positiver Vorhersagewert (PV): 97.0% (95% Konfidenzintervall 93.6%-100%)

## REPRODUZIERBARKEIT

Die Reproduzierbarkeit innerhalb einer Analyseserie wurde ausgewertet. Eine starke und eine schwache Positivkontrolle für Norovirus GI und eine starke und eine schwache Positivkontrolle für Norovirus GII wurden mit ImmunoCard STAT! Norovirus in jeweils 5 gleichzeitigen Tests getestet. Die Testlinie der ImmunoCard STAT! Norovirus-Vorrichtung zeigte eine Reproduzierbarkeit von 100% für die starken und schwachen positiven Proben für GI und GII in allen Tests. Eine negative Kontrollprobe wurde in 5 gleichzeitigen Tests getestet und alle Testergebnisse wurden als negativ bestätigt.

## KREUZREAKTIVITÄT

Der ImmunoCard STAT! Norovirustest wurde auf Spezifität ausgewertet, indem die unten aufgeführten bakteriellen und viralen Referenzstämme verwendet wurden:

## Bakterien

Die Kreuzreaktivität wurde nicht mit den folgenden Diarrhoe verursachenden Bakterien, Darmflorabakterien oder sonstigen Bakterien, die nosokomiale oder opportunistische Infektionen  $1 \times 10^8$  CFU/mL verursachen, beobachtet:

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (O6)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Escherichia coli</i> (O78)	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Escherichia coli</i> (O114)	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i> (O126)	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
		<i>Vibrio parahaemolyticus</i>

## Viren

Die Kreuzreaktivität wurde nicht mit den folgenden, Diarrhoe verursachenden Viren beobachtet:

Adenovirus typ 40 ( $1 \times 10^{6,5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Adenovirus typ 41 ( $1 \times 10^{5,5}$  TCID<sub>50</sub>/mL)  
Rotavirus A ( $1 \times 10^{5,25}$  TCID<sub>50</sub>/mL)

## TESTS HINSICHTLICH STÖRENDE SUBSTANZEN

Die folgenden Substanzen hatten bei Anwesenheit in den angegebenen Konzentrationen im Stuhl keine Auswirkungen auf die Ergebnisse.

1. Hämoglobin: Tests mit hinzugefügtem Hämoglobin zur Simulierung von blutigem Stuhl zeigten, dass eine Konzentration bis zu 0,5 g/dL keine Auswirkung auf die Ergebnisse hat.
2. Injektion von Intrafat®: diese im Handel erhältliche Fettemulsion (Sojabohnenöl 10%, 2,5% Glycerin 1,2% Eiphsphatid) wird dem Stuhl hinzugefügt, um einen fettigen Stuhl zu simulieren, und zeigt, dass eine Konzentration bis zu 3% keine Auswirkung auf die Testergebnisse hat.

## REFERENCES/REFERENZE/BIBLIOGRAPHIE/REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENZEN

1. Rooney RM, Kramer EH, Mantha S, Nichols G, Bartram JK, Farber JM, Benembarek PK. A review of outbreaks of food borne diseases associated with passengers ships: evidence for risk management. Public Health Reports. 2004;119: 427-34.
2. Johansson PJH, Torvén M, Hammarlund A, Björne U, Hedlund K, Svensson L. Food-borne outbreak of gastroenteritis associated with Genogroup I Calicivirus. J. Clin. Microbiol. 2002; 40: 794-98.
3. Lopman BA, Reacher MH, Vipond IB, Hill D, Perry C, Halladay T, Brown DW, Edmunds WJ, Sarangi J. Epidemiology and cost of nosocomial gastroenteritis, Avon, England, 2002-2003. Emerg Infect Dis. 2004;10:1827-34.
4. Cunliffe NA, Booth JA, Elliot C, Lowe SJ, Sopwith W, Kitchin N, et al. Healthcare-associated viral gastroenteritis among children in a large pediatric Hospital, United Kingdom. Emerg Infect Dis. 2010; 16: 55-62.
5. Hansman GS, Natori K, Shirato-Horikoshi H, Ogawa S, Oka T, Katayama K, Tanaka T, Miyoshi T, Sakae K, Kobayashi S, Shinohara M, Uchida K, Sakurai N, Shinozaki K, Okada M, Seto Y, Kamata K, Nagata N, Tanaka K, Miyamura T, Takeda N. Genetic and antigenic diversity among noroviruses. J Gen Virol. 2006;87:909-19.
6. Ike Molecular Epidemiology of Norovirus in Outbreaks of Gastroenteritis in Southwest Germany from 2001 to 2004. J Clin Microbiol, 2006, 44:1262-67.

## INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

### USO DEI SIMBOLI INTERNAZIONALI

## INTERNATIONAL SYMBOL USAGE

### UTILIZACIÓN DE SÍMBOLOS INTERNACIONALES

## INTERNATIONALE SYMBOLVERWENDUNG

You may see one or more of these symbols on the labeling/packaging of this product.

Uno o più di questi simboli possono essere riportati sulle etichette/scatola esterna di questo prodotto.

Puede encontrar alguno(s) de estos símbolos en el etiquetado/empaquetado de este producto.

Auf der Kennzeichnung/Verpackung dieses Produkt sind eventuell folgende Symbole vermerkt.

## Key guide to symbols /Guida ai simboli/Guide des symboles/Guia de símbolos/Erläuterung der graphischen Symbole



Expiry date / Scadenza / Date de péremption / Fecha de caducidad / Haltbarkeitsdatum



Lot number / Numero di lotto / Numéro de lot / Número de lote / Chargenbezeichnung



For in vitro diagnostic use / Per uso diagnostico in vitro / Usage in vitro/ Uso diagnóstico in vitro / In vitro Diagnostikum



This product fulfills the requirements of Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices / Questo prodotto soddisfa i requisiti della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro/ Ce produit répond aux exigences de la Directive 98/79 CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro / Este producto cumple con las exigencias de la Directiva 98/79/CE sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro/ Dieses Produkt entspricht den Anforderungen der Richtlinie über In Vitro Diagnostica 98/79/EG



Catalogue number / Numero di Catalogo / Référence article / Número de catálogo / Bestellnummer



Please read pack insert / Leggere il foglietto informativo / Lire attentivement le mode d'emploi / Leer instrucciones de uso / Bitte Packungsbeilage beachten



Manufactured by / Prodotto da / Fabriqué par/ Fabricado por / Hergestellt von



Contains sufficient for <n> tests / Contenuto sufficiente per "n" prove/ Contenu suffisant pour "n"tests / Contenido suficiente para <n> ensayos / Inhalt ausreichend für <n> Prüfungen



Store at / Conservare a / Conserver à / Conservar a / Lagerung bei



Do not freeze / Non congelare / Ne pas congeler / No congelar / Nicht einfrieren



**Meridian Bioscience Europe Srl**  
Via dell' Industria, 7  
I-20020 Villa Cortese, Milano - Italy  
Tel: +39 (0331) 43 36 36  
Fax: +39 (0331) 43 36 16  
E-mail: info@mdeur.com

**Meridian Bioscience, Inc.**  
Corporate Office  
3471 River Hills Drive  
Cincinnati, Ohio 45244, USA  
Tel: +1 (513) 271 37 00  
Fax: +1 (513) 271 37 62  
E-mail: mbi@meridianbioscience.com

**Meridian Bioscience Europe France**  
Le Quadra Promenade des Anglais, 455  
F-06299 Nice Cedex 3 - France  
Tel: +33 (4) 93 18 72 10  
Fax: +33 (4) 93 18 72 11  
E-mail: info@meridianbioscience.fr

**Meridian Bioscience Europe sa/nv**  
Rue de l'Industrie, 7  
B-1400 Nivelles - Belgium  
Tel: +32 (67) 89 59 59  
Fax: +32 (67) 89 59 58  
E-mail: info@mdeur.be

**Meridian Bioscience Europe bv**  
Halderheiweg, 6  
NL-5282 SN Boxtel  
The Netherlands  
Tel: +31 (411) 62 11 66  
Fax: +31 (411) 62 48 41  
E-mail: meridian.info@planet.nl

