

NOROTOP+®

Rychlý test, pouze pro *in vitro* diagnostiku, určený pro detekci antigenů norovirů genoskupin I a II ve vzorcích stolice

Kat.č.: 5011

1. Použití

NOROTOP+® je rychlý, kvalitativní laterální průtokový imunoesej pro detekci antigenů norovirů ve stolici. Noroviry způsobují akutní gastroenteritidy, které jsou vysoce nakažlivé a často jsou příčinou kolektivních nákaz.

2. Akutní gastroenteritidy

Noroviry patří do geneticky rozmanité skupiny jednovláknových RNA virů bez obalu, patřících do rodu Caliciviridae. Po desetiletí byly nazývány "small round structured viruses" (SRSV) nebo "Norwalk-like viruses". Dnes jsou pojmenovány noroviry (jejich taxonomie byla zkoumána za využití moderních molekulárních technik). Zpočátku byly uznávány čtyři antigenní typy SRSV, ale v poslední době jsou popsány tři genoskupiny Norovirů. S lidskými infekcemi jsou spojeny genoskupiny I a II, zatímco genoskupina III je dávana do souvislosti s infekcemi u skotu a prasat.

Noroviry jsou celosvětově hlavní příčinou akutních gastroenteritid, které jsou charakterizovány ohniskovým výskytem. Jsou vysoce nakažlivé, infekci je schopno vyvolat inokulum s méně než 10 virovými částicemi. K přenosu viru dochází požitím kontaminovaných potravin, vody a kontaktem mezi osobami. Způsob přenosu je převážně feko-orální, ale může docházet i k přenosu vzdušnou cestou díky aerosolizaci zvratků, které zpravidla obsahují hojné množství infekčních virových částic.

Onemocnění je akutní, obvykle mírnějšího průběhu, ačkoliv jsou známy i případy úmrtí u neléčených dětí a u starších či oslabených jedinců. Inkubační doba je obvykle 24 – 48 hodin. V některých případech může dojít k projevům onemocnění již po 12 hodinách od doby expozice. Schopnost norovirů působit ohniskové infekce v institucích se stala jedním z problémů veřejného zdraví. Ohniska norovirových nákaz bývají spojována s restauracemi a různými institucemi (pečovatelské domy, nemocnice, sportovní tábory).

Příznaky norovirové infekce zahrnují nevolnost, zvracení, průjem a někdy břišní křeče. U některých pacientů je onemocnění doprovázeno nízkou teplotou, zimnicí, bolestmi hlavy, svalů a celkovou únavou. Onemocnění často propukne náhle a postižené osoby se cítí velmi špatně. U většiny pacientů onemocnění samo odezní do dvou dnů. U dětí dochází ke zvracení častěji, než u dospělých osob.

3. Princip testu

Souprava NOROTOP+® představuje kvalitativní, laterální průtokový imunotest pro detekci antigenů norovirů ve stolici. Tento test využívá specifické monoklonální protilátky proti genoskupinám I a II, které jsou navázány na testovací membráně. Během testu reaguje vzorek stolice s konjugovanými protilátkami.

Směs migruje vzhůru po membráně vztlínáním a chromatograficky reaguje s protilátkami proti genoskupině I resp. II na membráně a vytváří barevný proužek na úrovni zón T1 resp. T2. Přítomnost barevného proužku v reakčních zónách T1 nebo T2 indikuje pozitivní výsledek, zatímco jeho nepřítomnost indikuje výsledek negativní. V testu je zahrnuta i interní kontrola, a to barevný proužek, který se vždy objeví v kontrolní reakční zóně (C). Ten nám indikuje, že byl aplikován dostatečný objem vzorku, a že došlo k dostatečnému zvlhčení membrány.

4. Obsah soupravy

- 10 testovacích kazet balených individuálně v sáčku s vysoušedlem
- 1 lahvička s extrakčním roztokem (10 ml)
- 10 zkumavek
- 10 tampónů
- návod k použití

5. Další potřebný materiál (není součástí soupravy)

- mikropipeta
- časovač
- centrifuga

6. Informace o testu

6.1. Bezpečnostní opatření

- Pouze pro *in vitro* diagnostiku.
- Před provedením testu by měly být vzorky a reagentie vytemperovány na laboratorní teplotu.
- Nepoužívejte test po uplynutí doby expirace. Použití testu po uplynutí doby expirace může vést k nesprávným výsledkům.
- Nepipetujte vzorky a reagentie ústy.
- Test provádějte dle přiloženého návodu k použití.
- Testovací kazetu vyjmete z obalu těsně před provedením testu.
- Při manipulaci se vzorky a reagentiemi nejezte, nepijte a nekuřte.
- Při provádění testu použijte ochranné pracovní prostředky, jako jsou rukavice, ochranné brýle a laboratorní plášť.
- Zabraňte možnému potřísnění a vzniku aerosolu.
- Vlhkost a nesprávná teplota může nepříznivě ovlivnit výsledky.
- Test je určen pouze na jedno použití. Nepoužívejte opakovaně.
- Se vzorky nakládejte jako s potenciálně biologicky nebezpečným materiálem. Dodržujte stanovená bezpečnostní opatření, týkající se mikrobiologických rizik, ve všech prováděných postupech a řiďte se standardními postupy pro správnou likvidaci vzorků a kontaminovaných kazet.

6.2. Omezení testu

- Pro získání spolehlivých výsledků, respektujte pokyny a postupujte podle návodu. Interpretaci výsledků najdete v návodu na použití.
- Test by měl být používán pouze pro detekci antigenů norovirů ze vzorku lidské stolice.
- Vzorky stolice, pocházející od dětí do jednoho roku, mohou poskytovat falešně pozitivní výsledky.
- Stejně tak, jako je tomu i u jiných diagnostických testů, je nutné konfrontovat výsledek testu s dalšími dostupnými klinickými nálezy. Test pouze indikuje přítomnost nebo absenci antigenů norovirů ve vzorku a test by neměl být použit jako jediný prostředek pro diagnostiku norovirové infekce. Pokud je výsledek testu negativní a klinické příznaky přetrvávají, je doporučeno provést další podrobné testování za využití jiných diagnostických metod.

6.3. Skladování a stabilita soupravy

- Nepoužívejte test po uplynutí doby expirace.
- Testovací kazety musí být uloženy v ochranném obalu až do doby provedení testu.
- Soupravu skladujte na suchém místě mimo zdroje vznícení, při teplotě 2 – 30 °C. Nezmrazujte.

6.4. Skladování vzorku

- Testování by mělo být provedeno ihned po odebrání vzorku. Při delší době skladování vzorku je nutné jej uchovávat při teplotě - 20 °C.
- Před provedením testu nechte vzorek vytemperovat na laboratorní teplotu. Zamrazené vzorky musí být před provedením testu dokonale rozmrazeny a promíchány.
- Rozmražené vzorky znovu nezmrazujte.
- V případě nutnosti transportu vzorku se řiďte regulačními pravidly týkajícími se transportu vzorků lidského původu.

6.5. Kontrola kvality testu

Pro každou šarži testů je prováděna vnitřní kontrola. Požadovaný objem vzorku je kontrolován a postup testu je validován.

Doporučuje se použít kontroly (pozitivní a negativní) k ověření funkčnosti testu pro každou novou dodávku nebo novou šarži.

7. Postup

Vzorky a testovací souprava by měly být před provedením testu minimálně 15 – 30 minut uchovány při laboratorní teplotě.

1. Extrakce vzorku

- Do zkumavky odeberte pomocí odběrového tamponu přibližně 50 mg vzorku stolice (50 µl tekuté stolice) a přidejte 0,8 ml extrakčního roztoku. Důkladně promíchejte za použití vortexové trepačky.
- Nechte stát 3 minuty. V případě většího množství vzorku nebo v případě jeho vyšší viskozity proveďte jeho centrifugaci při 3000 x g po dobu 10 minut.

2. Reakce

- Vyměňte testovací kazetu z jejího obalu a umístěte ji na čistý a rovný povrch.
- Do jamky pro vzorek (označena „S“) pipetujte 80 µl supernatantu vzorku.

Za 15 minut odečtete výsledek testu. **Výsledky testu neodečítejte po době delší než 15 minut.**

8. Hodnocení

8.1. Výsledky testu

| | | |
|---|--|--|
|  <p>POZITIVNÍ</p> | <p>Fialový kontrolní proužek C a fialový testovací proužek T1 (i v případě slabé intenzity)</p> | <p>Test je pozitivní na Norovirus genoskupiny I. Ve vzorku je přítomen Norovirus genoskupiny I.</p> |
|  <p>POZITIVNÍ</p> | <p>Fialový kontrolní proužek C a fialový testovací proužek T2 (i v případě slabé intenzity)</p> | <p>Test je pozitivní na Norovirus genoskupiny II. Ve vzorku je přítomen Norovirus genoskupiny II.</p> |
|  <p>NEGATIVNÍ</p> | <p>Fialový kontrolní proužek C a zóna T1 a T2 bez proužku</p> | <p>Test je negativní. Ve vzorku není přítomen Norovirus genoskupiny I a II.</p> |
|  <p>NEPLATNÝ</p> | <p>Chybí kontrolní proužek C nebo nejsou žádné proužky</p> | <p>Test je neplatný: provedte test znovu s novou testovací kazetou Chyba v postupu nebo nedostatečný objem vzorku.</p> |

8.2. Funkčnost testu a klinické hodnocení

- **Reaktivita**

Genoskupina I zahrnuje genotypy 1, 4, 8 a 11.

Genoskupina II zahrnuje genotypy 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14 a 15.

- **Zkřížená reaktivita**

Nebyla prokázána žádná zkřížená reaktivita s Rotaviry, Adenoviry, Sapoviry a Astroviry.

- **Detekční práh**

Minimální detekční citlivost soupravy NOROTOP+® je asi 1 x 10⁴ kopií, genoskupiny II:4 nebo 6,25 ng/ml VLP (virus like particle) z genoskupiny I:1 a II:4.

- Senzitivita – specificita

Byla provedena porovnávací studie s metodou RT-PCR.

| | | RT-PCR | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|--------|
| | | Pozitivní | Negativní | CELKEM |
| NOROTOP+® | Pozitivní | 44 | 2 | 46 |
| | Negativní | 2 | 22 | 24 |
| | CELKEM | 46 | 24 | 70 |

| Senzitivita | Specificita | Negativní prediktivní hodnota | Pozitivní prediktivní hodnota |
|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| $Tp / (Tp + Fn)$ 44 / (44 + 2) | $Tn / (Tn + Fp)$ 22 / (22 + 2) | $Tn / (Tn + Fn)$ 22 / (22 + 2) | $Tp / (Tp + Fp)$ 44 / (44 + 2) |
| 95.65 % IC: 85.16 - 99.47 % | 91.67 % IC: 73.00 - 98.97 % | 91.67 % | 95.65 % |

9. Literatura

1. Shiota, T., Okame, M., Takanashi, S., Khamrin, P., Takagi, M., Satou, K., Masuoka, Y., Yagy, F., Shimizu, Y., Kohno, H., Mizuguchi, M., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Characterization of a Broadly Reactive Monoclonal Antibody against Norovirus Genogroups I and II: Recognition of a Novel Conformational Epitope. *J. Virol.* 81: 12298-12306.
2. Nguyen, T. A., Khamrin, P., Takanashi, S., Le Hoang, P., Pham, L. D., Hoang, K. T., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Evaluation of Immunochromatography Tests for Detection of Rotavirus and Norovirus among Vietnamese Children with Acute Gastroenteritis and the Emergence of a Novel Norovirus GII.4 Variant. *J Trop Pediatr* 53: 264-269.
3. M Okame, T Shiota, G Hansman, M Takagi, F Yagy, S Takanashi, TG Phan, Y Shimizu, H Kohno, S Okitsu, H Ushijima (2007). Antinorovirus polyclonal antibody and its potential for development of an antigen-ELISA. *J Med Virol* (2007) 79: 1180-6.
4. Tracy Dewese Parker & al., Identification of genogroup I and genogroup II broadly reactive epitopes on the norovirus capsid, *Journal of Virology*, June 2005: 7402-7409.










10. Kontakty

Výrobce:

ALL.DIAG
10, rue Ettore Bugatti – BP6
67038 Strasbourg Cedex 2
tel: 03 88 78 80 88, fax: 03 88 78 76 78
www.alldiag.com; info@alldiag.com

Distributor:

LABOSERV s.r.o.
Hudcova 78 b, 612 00 Brno
Tel: +420 541 243 113
Fax: +420 541 243 114
email: laboserv@laboserv.cz
<http://www.laboserv.cz>

| Použité symboly | | | |
|---|-------------------------------|---|--------------------|
|  | Pozor, čtěte návod |  | Testy v soupravě |
|  | Použití pouze <i>in vitro</i> |  | Datum expirace |
|  | Skladujte mezi 2-30°C |  | Číslo šarže |
| | |  | Výrobce |
| | |  | Pouze na 1 použití |
| | |  | Katalogové číslo |