

## RIDA® QUICK Norovirus

**REF** N1402



## 1. Účel použití

Pro *in-vitro* diagnostiku. RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus je rychlý kvalitativní imunochromatický test pro stanovení norovirů genoskupiny 1 (GG I) a genoskupiny 2 (GG II) ve vzorcích stolice. Používá se jako pomůcka pro diagnostiku gastroenteritidy a k analýze vzorků stolice od dětí a dospělých s příznaky suspektní gastroenteritidy způsobené noroviry.

## 2. Souhrn a vysvětlení testu

Noroviry jsou významným původcem gastroenteritidy po celém světě, v USA se odhaduje 23 milionů případů ročně (1, 2). Často se podílejí na komunitních epidemiích, jako např. v domovech s pečovatelskou službou, v nemocnicích, denních stacionářích, vězeních a na výletních plavbách (3, 4, 5). Epidemie způsobované noroviry jsou hlášeny častěji než případy způsobené bakteriálními patogeny a mají významný dopad na veřejné zdraví (6).

RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus test, který je založen na monoklonálních protilátkách, umožňuje rychle a spolehlivě detekovat antigeny ve vzorcích stolice, čímž ulehčuje péči o pacienta. Rychlý test je přímou senzitivní metodou pro stanovení antigenů noroviru genotypu I i II. Je zvláště vhodný k použití u malých sérií vzorků.

## 3. Princip testu

Tento rychlý test je jedнокrokový imunochromatografický test s laterálním vztlínáním, používající biotinylované zlatem značené protilátky proti noroviru. Když jsou v pozitivním vzorku přítomny noroviry, vzniknou imunitní komplexy se zlatem značenými protilátkami proti noroviru, které migrují přes reakční membránu. Streptavidin zachycuje migrující imunitní komplexy na testovací linii (T linie) díky biotinu navázanému na protilátky proti noroviru, což vede k červenofialovému zbarvení T linie. Migrující zlatem značené protilátky nenavázané v komplexu se navážou později na kontrolní linii (C linie). Pokud ve vzorku nejsou přítomny žádné antigeny noroviru, nedojde k navázání zlatem značených imunokomplexů na T linii, ale pouze na C linii. Přítomnost červené linie C potvrzuje, že byl test validní.

#### 4. Dodávaná činidla

Každá souprava obsahuje dostatek činidel pro 25 testů.

Cassette	25 testů	25 individuálně balených testových kazet
Reagent A	13,5 ml	Specifické protilátky proti noroviru (myší); obsahuje 0,05% azid, připraveno k použití, modrá barva
Reagent B	13,5 ml	Specifické protilátky proti noroviru (myší); obsahuje 0,05% azid, připraveno k použití, žlutá barva
Pipet	25	1 balení s 25 jednorázovými pipetami
Reagent vial	25	1 balení s 25 reakčními nádobkami
Pipet Tip	25	1 balení s 25 pipetovacími špičkami
Microlit Pipet	1	Mikrolitrová pipeta na objemy 150 µl

Nebezpečné látky jsou označeny v souladu s předpisy pro značení. Podrobnosti uvádí bezpečnostní listy (SDS), které jsou k dispozici na stránkách [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Pokyny k uskladnění

Soupravu uchovávejte při teplotě 2 až 25 °C. Obsah soupravy bude stabilní do data spotřeby vytištěného na štítku produktu. Po uplynutí data spotřeby nelze zaručit kvalitu produktu. Obdobně nelze zaručit použitelnost kazet, pokud bylo balení kazet poškozeno.

#### 6. Potřebná činidla, která nejsou součástí dodávky

##### 6.1 Potřebná činidla

K provedení tohoto testu nejsou nutná žádná další činidla.

##### 6.2 Potřebné laboratorní vybavení

Následující vybavení je potřebné k provedení tohoto testu:

Vybavení
Vortex mixer (volitelný)
Nádoba na odpad obsahující 0,5% roztok chlornanu sodného

## 7. Varování a bezpečnostní opatření pro uživatele

Pouze k diagnostickému použití *in vitro*.

Tento test smí provádět výhradně vyškolený laboratorní personál. Dodržujte pokyny pro práci ve zdravotnických laboratořích. Vždy striktně dodržujte uživatelské pokyny pro provádění testu. Nepipetujte vzorky ani činidla ústy. Zabraňte kontaktu s poškozenou pokožkou a sliznicemi. Při manipulaci s činidly a vzorky používejte osobní ochranné pomůcky (vhodné rukavice, zástěru, ochranné brýle) a po dokončení testu si umyjte ruce. Nekuřte, nejezte ani nepijte v oblastech, kde se zpracovávají vzorky.

Podrobnosti uvádí bezpečnostní listy (SDS), které jsou k dispozici na stránkách [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Zajistěte správnou a zodpovědnou likvidaci všech činidel a materiálů po jejich použití. Při likvidaci dodržujte národní předpisy.

Činidla obsahují azid sodný jako konzervační přípravek. Tato látka nesmí přijít do kontaktu s pokožkou ani sliznicemi.

Všechna činidla a materiály, které přijdou do kontaktu s potenciálně infekčními vzorky, je nutné ošetřit vhodnými dezinfekčními přípravky (např. chlornan sodný) nebo sterilizovat v autoklávu při teplotě 121 °C v minimálně 1hodinovém cyklu.

## 8. Odběr a uskladnění vzorků

Vzorky stolice je nutné odebírat do čistých nádob bez konzervačních látek a uchovávat při teplotě 2 až 8 °C až do zpracování pro testování. Pokud vzorky nelze zpracovat do 3 dnů, je nutné je uskladnit při teplotě -20 °C nebo nižší (tabulka 1). Zmražené vzorky je nutné zcela rozmrazit a před testováním uvést do pokojové teploty. Je nutné předcházet opakovanému zmrazování a rozmrazování vzorků. Pokud použijete rektální stěr, k provedení testu je nutné zajistit dostatek fekálního materiálu (asi 50 mg).

**Tab. 1: Uskladnění vzorků**

Neředěné vzorky stolice	
2 až 8 °C	≤ -20 °C
≤ 3 dny	> 3 dny

## 9. Průběh testu

### 9.1 Obecné informace

Před použitím je nutné všechny testované vzorky, činidla a testovací kazety vytemperovat na pokojovou teplotu (20 až 25 °C). Testovací kazety vytáhněte z obalu až bezprostředně před použitím. Každá testovací kazeta je určena pouze k jednorázovému použití, opakované použití je zakázáno. Neprovádějte test na přímém slunečním světle. Přebytek činidla nevracejte zpět do lahvičky, hrozí kontaminace.

### 9.2 Příprava vzorků

Přidejte **0,5 ml** činidla A **Reagent | A** a **0,5 ml** činidla B **Reagent | B** do označené reakční nádoby **Reagent vial**. Striktně dodržujte značení pro 0,5 ml a 1,0 ml na reakční nádobce. Činidla A a B musí být přítomna v poměru **1:1!**

#### 9.2.1 Příprava vzorků stolice

Pokud je vzorek stolice tekutý, naberte 50 µl do jednorázové pipety **Pipet** (po druhý hrbolk) a přidejte jej do činidel v reakční nádobce, abyste vytvořili suspenzi. Pokud je vzorek stolice pevný, zpracujte asi 50 mg vzorku obdobným způsobem, abyste vytvořili suspenzi. Poté pečlivě uzavřete reakční nádobku a vzorek homogenizujte mícháním (a zpracováním ve vortexu: volitelné). Následně ponechte homogenizovanou suspenzi stolice stát asi **5 minut**, abyste získali supernatant převážně prostý částic. Reakční nádobku můžete vložit do jednoho ze tří centrálních otvorů držáků na činidla, kde proběhne sedimentace.

### 9.3 Testování vzorků

Vytáhněte kazetu **Cassette** z obalu a umístěte ji na rovný povrch. Po nasazení nepoužité špičky **Pipette Tip** na mikrolitrovou pipetu **Microlit Pipette** odeberte 150 µl supernatantu z příslušné reakční nádoby a aplikujte jej do jamky na vzorek v testovací kazetě. Ujistěte se, že tekutina volně protéká přes membránu. Pokud jste test provedli správně, během asi 3 minut by se měl objevit barevný proužek v kontrolní linii C. Pokud se do 3 minut neobjeví žádná kontrolní linie, test je neplatný a je nutné jej zopakovat. Při opakovaném testování nechte testovaný vzorek lépe sedimentovat (volitelně můžete centrifugovat s přetížením 2 000 g po dobu 2 minut). Supernatant napipetujte do jamky na vzorky nové testovací kazety. Výsledek testu vždy odečtěte do **15 minut** od aplikace vzorku do jamky na vzorek. Intenzita barevných změn linií může při vyvíjení narůstat a barva linií se může změnit z červenofialové na modro/šedofialovou, když proužek uschne.

## 10. Kontrola kvality – známky nestability nebo zkažení činidel

Test je neplatný, pokud dojde k poškození testovací kazety před aplikací suspenze vzorku do jamky na vzorky nebo pokud před použitím zjistíte jakékoli změny barvy či

barevné linie. Test je neplatný, pokud se během 15minutového inkubačního období neobjeví žádná červenofialová kontrolní linie. Pokud se neobjeví žádná kontrolní linie, je nutné před opakováním testu provést následující kontroly:

- Zkontrolujte datum spotřeby testovací kazety a použitých činidel.
- Zkontrolujte, jestli byl test proveden správně.
- Zkontrolujte, jestli nejsou činidla kontaminovaná.

Pokud se po zopakování testu s novou kazetou stále neobjevuje žádná kontrolní linie, obraťte se na výrobce nebo svého místního distributora R-Biopharm.

## 11. Hodnocení a interpretace

Neměly by se objevit více než dvě linie, a to v následujícím pořadí od jamky na vzorek: jedna červenofialová testovací linie (T) neboli reakční proužek a jedna červenofialová kontrolní linie (C) neboli kontrolní proužek. **Pokud se neobjeví žádná kontrolní linie, test je neplatný a je nutné jej zopakovat.**

Výsledky testu se interpretují následovně:

- **Norovirus: pozitivní:** Objeví se testovací linie i kontrolní linie.
- **Norovirus: negativní:** Objeví se pouze kontrolní linie.
- **Neplatné:** Neobjeví se žádná kontrolní linie C – test je neplatný, i kdyby se v takovém případě objevila testovací linie. Také, pokud se barevná linie objeví mnohem později než po 15 minutách, je test rovněž neplatný a je nutné jej zopakovat.

## 12. Omezení metody

Rychlý test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus specificky detekuje noroviry subtypů GGI a GGII ve vzorcích lidské stolice. Z výsledku testování nelze vyvodit žádnou korelaci mezi intenzitou specifických barevných linií a výskytem nebo klinickou závažností klinických příznaků. **Výsledek testování je vždy nutné interpretovat v kombinaci s klinickými známkami a příznaky.**

**Pozitivní** test nevylučuje možnost jiných infekčních agens nebo příčin.

**Negativní** test nevylučuje možnost infekce noroviry. Test může být negativní kvůli intermitentní exkreci patogenů nebo kvůli koncentraci norovirů pod limitem detekce. Pokud máte na základě anamnézy důvodné podezření na infekci noroviry, otestujte jiný vzorek stolice.

Nadměrná množství vzorku stolice mohou vést k hnědému zbarvení testovacího proužku, které může zakrýt červenofialovou barvu testovací a kontrolní linie. V případě takového zbarvení je test nutné zopakovat s menším množstvím vzorku stolice. Také lze provést silnější centrifugaci suspenze stolice a tak zjistit, jestli jsou noroviry skutečně přítomny ve vzorku, ale specifická testovací linie byla pouze zamaskovaná přebytečnou stolicí.

## 13. Provozní charakteristiky

### 13.1 Klinická citlivost a specifická

Ve validační studii bylo změřeno celkem 75 vzorků stolice (čerstvé a zmrazené vzorky) pomocí rychlého testu RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus ve srovnání s RT-PCR se zaměřením na noroviry genoskupiny 1 a 2. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce.

**Tab. 2:** Senzitivita a specifická testu RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus ve srovnání s RT-PCR

		RIDA <sup>®</sup> QUICK Norovirus	
		+	-
RT-PCR	+	23	2
	-	1	49

Senzitivita: 92,0 %  
Specifická: 98,0 %  
Pozitivní prediktivní hodnota: 95,8 %  
Negativní prediktivní hodnota: 96,0 %

### 13.2 Přesnost

Přesnost testu RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus byla měřena reprodukovatelností v rámci testu (10 replikátů / 1 den / 1 pracovník obsluhy / 1 šarže), reprodukovatelností v různé dny (3 replikáty / 10 dní / 1 pracovník obsluhy / 1 šarže), reprodukovatelností u různých pracovníků (3 replikáty / 1 den / 3 pracovníci obsluhy / 1 šarže) a reprodukovatelností u různých šarží (3 replikáty / 1 den / 1 pracovník obsluhy / 3 šarže). Pro každý test bylo měřeno pět referencí: jedna negativní, dvě slabě pozitivní a dvě středně pozitivní reference. Test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus poskytl ve všech měřeních očekávaný výsledek.

### 13.3 Zkřížená reaktivita

Pomocí testu RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus byly měřeny různé patogenní bakterie střevního traktu a nevykazovaly žádnou křížovou reaktivitu. Testy byly provedeny za použití suspenzí bakterií ( $10^7$  až  $10^9$  CFU/ml), kultur parazitů ( $10^7$  až  $10^9$  organismů/ml), supernatantů kultur buněk infikovaných virem a vzorků stolice.

Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce:

Testovaný organismus	Zdroj	Výsledek
Adenovirus	Supernatant buněčné kultivace	Negativní
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultivace	Negativní
Astrovirus	Supernatant buněčné kultivace	Negativní
<i>Bacillus cereus</i>	Kultivace	Negativní
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultivace	Negativní
<i>Campylobacter coli</i>	Kultivace	Negativní
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultivace	Negativní
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultivace	Negativní
<i>Campylobacter lari</i>	Kultivace	Negativní
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Kultivace	Negativní
<i>Candida albicans</i>	Kultivace	Negativní
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultivace	Negativní
<i>Clostridium difficile</i>	Kultivace	Negativní
<i>Clostridium perfringens</i>	Kultivace	Negativní
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultivace	Negativní
<i>Clostridium sporogenes</i>	Kultivace	Negativní
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultivace	Negativní
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Kultivace	Negativní
<i>E. coli</i> (O6)	Kultivace	Negativní
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Kultivace	Negativní
<i>Entamoeba histolytica</i>	Kultivace	Negativní
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kultivace	Negativní
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultivace	Negativní
Giardia lamblia	Vzorek stolice	Negativní
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultivace	Negativní
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultivace	Negativní
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultivace	Negativní
Rotavirus	Supernatant buněčné kultivace	Negativní
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultivace	Negativní
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultivace	Negativní
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultivace	Negativní
<i>Shigella flexneri</i>	Kultivace	Negativní
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultivace	Negativní



<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultivace	Negativní
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultivace	Negativní
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultivace	Negativní

#### 13.4 Interferující látky

Následující látky nevykazovaly žádný významný vliv na výsledky testu po smíchání se vzorky stolice pozitivními a negativními na noroviry při specifikovaných koncentracích:










Loperamid	5 % w/w	Síran barnatý	5 % w/w
Pepto-Bismol	5 % v/w	Cyklamát	5 % v/w
Lidská krev	5 % v/w		
Kyselina stearová / kyselina palmitová (poměr 1:1)	40 % w/w	Metronidazol 0,5	5 % v/w
Hlen	5 % w/w	Diklofenak	0,00263 % v/w

## 14. Historie verze

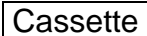





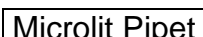
Číslo verze	Kapitola a návrh
2012-10-26	Předchozí verze
2019-07-08	Obecná revize 4. Dodávaná činidla 7. Varování a bezpečnostní opatření pro uživatele 8. Odběr a uskladnění vzorků 9.2 Příprava vzorků

## 15. Vysvětlení symbolů

### Všeobecné symboly

	Pro in-vitro diagnostiku.
	Prostudujte si návod k použití
	Číslo šarže
	Použitelný do
	Skladovací teplota
	Číslo výrobku
	Počet testů
	Datum výroby
	Výrobce

### Symbole specifické pro test

	Testovací kazeta
	Činidlo A
	Činidlo B
	Jednorázová pipeta
	Reakční nádobka
	Pipetovací špička
	Mikrolitrová pipeta

## 16. Literatura

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