

## RIDA® QUICK Norovirus

**REF** N1402



## 1. Application

Pour le diagnostic *in vitro*. Le test RIDA®QUICK Norovirus est un test rapide immunochromatographique qualitatif pour caractériser les Norovirus du génogroupe 1 (GG I) et génogroupe 2 (GG II) dans des échantillons de selle. Il permet d'aider à diagnostiquer une gastroentérite et est utilisé pour l'examen des échantillons de selle des enfants et des adultes dont les symptômes laissent supposer une gastro-entérite causée par un Norovirus.

## 2. Résumé et explication du test

Les Norovirus sont une cause significative dans le monde entier des gastro-entérites avec 23 millions de cas annuels estimés aux USA (1, 2). Ils sont souvent en cause lors des épidémies dans des collectivités telles que des maisons de retraite, des hôpitaux, des garderies, des prisons et également sur des bateaux de croisière (3, 4, 5). Les épidémies avec les Norovirus sont souvent rapportées comme étant des épidémies causées par des agents pathogènes bactériens et peuvent exercer une influence considérable sur la santé publique (6).

Le test RIDA®QUICK Norovirus basé sur des anticorps monoclonaux permet de caractériser rapidement et de manière fiable les antigènes des Norovirus dans des échantillons de selle et permet en conséquence une prise en charge rapide des patients. Le test rapide est une méthode simple et sensitive pour caractériser des antigènes des deux génogroupes de Norovirus I et II. Son utilisation convient en particulier avec des petites séries d'échantillons.

## 3. Principe du test

Le test rapide présenté ici est un test immunochromatographique sur membrane en une étape, qui utilise aussi bien des anticorps anti-norovirus biotinylés que marqués à l'or. Dès que des norovirus sont présents dans un échantillon positif, il se forme des immunocomplexes avec les anticorps anti-norovirus marqués, qui traversent alors la membrane. La streptavidine qui se trouve sur la ligne de test T lie les immunocomplexes qui s'écoulent via la biotine couplée aux anticorps anti-norovirus, entraînant une coloration violet rouge de la ligne T. Les anticorps marqués à l'or non complexés qui traversent sont liés à la ligne de contrôle C qui suit. Sur les échantillons négatifs, les immunocomplexes marqués à l'or ne sont donc pas liés à la ligne T mais uniquement à la ligne C. La ligne C rouge indique en permanence si le déroulement du test a été valide.

#### 4. Contenu du paquet

Les réactifs contenus dans un coffret permettent de réaliser 25 tests.

Cassette	25 tests	25 cassettes de test emballées individuellement
Reagent A	13,5 ml	Anticorps spécifiques anti-norovirus (souris); contient 0,05 % d'acide, prêt à l'emploi, de couleur bleue
Reagent B	13,5 ml	Anticorps spécifiques anti-norovirus (souris); contient 0,05 % d'acide, prêt à l'emploi, de couleur jaune
Pipet	25	1 Sachet de 25 pipettes jetables
Reagent vial	25	1 Sachet de 25 flacons de réaction
Pipet Tip	25	1 Sachet de 25 pointes de pipette
Microlit Pipet	1	Pipette pour volume de 150 µl

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)).

#### 5. Instructions de conservation des réactifs

On peut conserver le coffret entre 2 et 25 °C ; son contenu est utilisable jusqu'à la date de péremption imprimée. Aucune garantie de qualité ne peut être assumée après dépassement de la date de péremption. De même, le caractère utilisable des cassettes ne peut plus être garanti si leur emballage est endommagé.

#### 6. Réactifs requis, mais non fournis

##### 6.1 Réactifs nécessaires

Aucun réactif supplémentaire n'est nécessaire pour effectuer ce test.

##### 6.2 Matériel de laboratoire nécessaire

Le matériel suivant est nécessaire pour effectuer ce test:

Matériel
Agitateur Vortex (en option)
Poubelle avec solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %

## 7. Mesures de précaution

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies et les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, tablier, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) à l'adresse [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

Après utilisation, veiller à mettre au rebut tous les réactifs et matériels d'une manière adéquate et responsable. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

Les réactifs contiennent de l'azoture de sodium comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés (p. ex. hypochlorite de sodium) ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

## 8. Prélèvement et conservation des échantillons

Collecter les échantillons de selles dans des récipients propres, sans aucun adjuvant, et les conserver entre 2 et 8 °C avant de commencer le test. S'il faut conserver les échantillons plus de 3 jours, les congeler à -20 °C (Tableau 1). Dans ce cas, décongeler entièrement les échantillons et les porter à température ambiante avant de commencer le test. Éviter de congeler et de décongeler les échantillons plusieurs fois.

S'il faut utiliser des prélèvements rectaux, veiller à disposer d'une quantité de fèces suffisante pour effectuer le test (env. 50 mg).

**Tableau 1: Conservation des échantillons**

Échantillons de selles non dilués	
2 à 8 °C	≤ -20 °C
≤ 3 jours	> 3 jours

## 9. Réalisation du test

### 9.1 Information générales

Avant utilisation, porter les échantillons, les réactifs ainsi que les cassettes de test à température ambiante (20 - 25 °C). Retirer les cassettes de test de leur emballage seulement juste avant de les utiliser. Les cassettes utilisées une fois ne sont plus réutilisables. Éviter l'ensoleillement direct pendant la réalisation du test. Ne pas verser les excédents de réactif dans les récipients car cela peut entraîner une contamination.

### 9.2 Préparation du test des échantillons

Dans un flacon de réaction **Reagent vial** marqué, verser goutte à goutte **0,5 ml** de réactif A **Reagent | A** et de réactif B **Reagent | B**. Respecter scrupuleusement les graduations 0,5 ml et 1,0 ml sur le flacon de réaction. Le rapport entre les réactifs A et B **doit** être de 1:1.

#### 9.2.1 Utilisation des échantillons de selles

Si l'échantillon de selles est **liquide**, aspirer 50 µl (jusqu'au deuxième renflement) avec la pipette jetable **Pipet** et les mettre en suspension dans le mélange de réactifs préparé.

Si l'échantillon de selles est **solide**, mettre environ 50 mg en suspension en procédant de la même manière. Ensuite, bien fermer le flacon de réaction et homogénéiser l'échantillon en le mélangeant soigneusement (avec l'agitateur Vortex le cas échéant). Ensuite, laisser sédimenter la suspension homogène pendant **5 minutes** pour qu'un surnageant presque exempt de particules se forme. Pour la sédimentation, on peut déposer le flacon de réaction dans un des trois orifices médians du support de réactifs.

### 9.3 Test des échantillons

Retirer la cassette de test **Cassette** de son emballage et la poser sur une surface plane. Ensuite, placer une pointe de pipette **Pipet Tip** inutilisée sur la pipette microlitre **Microlit Pipet**, prélever 150 µl de surnageant dans le flacon de réaction concerné et les déposer dans la case d'application de la cassette de test. Veiller à ce que le liquide traverse la membrane sans obstacle. Si l'opération est effectuée correctement, la bande de contrôle apparaît sur la ligne de contrôle C au bout de 3 minutes environ. Si la ligne de contrôle n'est toujours pas visible après 3 minutes, préparer un nouvel échantillon, le laisser sédimenter plus fortement (éventuellement par centrifugation à 2000 g pendant 2 minutes) et le déposer à l'aide d'une pipette dans la case d'application d'une nouvelle cassette de test.

Toujours lire le résultat du test après **15 minutes**. La coloration des bandes peut s'intensifier pendant toute la durée de développement et passer du violet rouge au violet bleu à violet gris lorsque la bandelette a séché.

## 10. Contrôle qualité – signes d’instabilité ou de détérioration des réactifs

On ne peut exploiter les résultats du test que si la cassette de test est en parfait état avant de recevoir la suspension d’échantillon et si elle ne présente aucun changement de couleur ni aucune bande. En outre, on doit pouvoir voir au moins la bande de contrôle violet rouge après le temps d’incubation de 15 minutes. Si tel n’est pas le cas, vérifier les points suivants avant de refaire le test :

- durée de conservation des cassettes de test et des réactifs utilisés
- réalisation correcte du test
- contamination des réactifs

Si la bande de contrôle n’est toujours pas visible après répétition du test avec une nouvelle cassette de test, prière de contacter le fabricant ou le distributeur R-Biopharm local.

## 11. Évaluation et interprétation

Deux bandes au maximum doivent apparaître, dans l’ordre suivant vu depuis la case d’application de l’échantillon : une bande de réaction violet rouge sur la ligne de test T et une bande de contrôle violet rouge sur la ligne de contrôle C. **Si la bande de contrôle n’apparaît pas, le test ne peut être exploité et il n’est pas valable !**

Interprétations possibles:

- **Norovirus positif** : les deux bandes sont visibles.
- **Norovirus négatif** : seule la bande de contrôle est visible.
- **Non valable** : aucune bande n’est visible, ou l’agencement est différent de celui indiqué ci-dessus. De même, les colorations de bandes qui apparaissent seulement bien après 15 minutes n’ont aucune valeur diagnostique et sont inexploitable.

## 12. Limites de la méthode

Le test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus détecte spécifiquement la présence de norovirus des génogroupes I et II dans les échantillons de selles. Le test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus détecte la présence d'antigènes de Norovirus dans les échantillons de selle. On ne peut pas en déduire une relation entre l'intensité de la bande spécifique visible et l'apparition ou la gravité des symptômes cliniques. **Toujours interpréter les résultats obtenus en corrélation avec le tableau clinique.**

Un résultat **positif** n'exclut pas la présence d'autres agents pathogènes ou sources d'infection.

Un résultat **négatif** n'exclut pas une infection éventuelle par norovirus. Il peut résulter d'une élimination intermittente de l'agent pathogène ou d'une quantité trop faible de norovirus dans l'échantillon. Si l'anamnèse laisse craindre de manière justifiée une infection par l'agent pathogène recherché, analyser un autre échantillon de selles du patient.

Un échantillon de selles trop volumineux peut entraîner une coloration brunâtre de la bandelette d'essai, qui masque la coloration violet rouge de la bande de test spécifique. Dans ce cas, il faut refaire le test avec une quantité de selles moindre ou avec une suspension de selles mieux éclaircie par centrifugation, afin de déterminer si des norovirus sont présents dans l'échantillon mais si la bande de test spécifique a été masquée par une matrice fécale trop abondante.

## 13. Performances

### 13.1 Qualité du test

Dans le cadre d'une étude de validation, une comparaison a été effectuée entre le test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus et la RT-PCR en temps réel pour les norovirus des génogroupes 1 et 2, sur un total de 75 échantillons de selles (échantillons frais et conservés par congélation). Les résultats sont présentés dans le tableau ci-après.

**Tab.2:** Sensibilité et spécificité du test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus par rapport à la RT-PCR en temps réel

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

Sensibilité : 92.0 %

Spécificité : 98.0 %

VPP: 95.8 %

VPN: 96.0 %

### 13.2 Précision

Pour déterminer la précision du test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus, on a analysé la reproductibilité intra-dosage (10 réplcats / 1 jour / 1 opérateur / 1 lot), la reproductibilité inter-jour (3 réplcats / 10 jours / 1 opérateur / 1 lot), la reproductibilité inter-opérateur (3 réplcats / 1 jour / 3 opérateurs / 1 lot) et la reproductibilité inter-lot (3 réplcats / 1 jour / 1 opérateur / 3 lots). Cinq références ont été mesurées pour chaque analyse : une négative, deux faiblement positives et deux moyennement positives. Toutes les mesures ont donné les résultats attendus pour le test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus.

### 13.3 Réactivité croisée

Différents germes pathogènes du tractus intestinal ont été testés avec le test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus et n'ont montré aucune réactivité croisée. Les tests ont été réalisés avec des suspensions bactériennes ( $10^7$  à  $10^9$  ufc/ml), avec des cultures de parasites ( $10^7$  à  $10^9$  organismes/ml), avec des surnageants de cultures de cellules infectées par un virus et avec un échantillon de selles.

Les résultats sont énumérés dans le tableau ci-après.

Germe testé	Origine / Source	Résultat
Adénovirus	Surnageant de culture de cellules	négatif
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Culture	négatif
Astrovirus	Surnageant de culture de cellules	négatif
<i>Bacillus cereus</i>	Culture	négatif
<i>Bacteroides fragilis</i>	Culture	négatif
<i>Campylobacter coli</i>	Culture	négatif
<i>Campylobacter fetus</i>	Culture	négatif
<i>Campylobacter jejuni</i>	Culture	négatif
<i>Campylobacter lari</i>	Culture	négatif
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Culture	négatif
<i>Candida albicans</i>	Culture	négatif
<i>Citrobacter freundii</i>	Culture	négatif
<i>Clostridium difficile</i>	Culture	négatif
<i>Clostridium perfringens</i>	Culture	négatif
<i>Clostridium sordellii</i>	Culture	négatif
<i>Clostridium sporogenes</i>	Culture	négatif
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Culture	négatif
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Culture	négatif
<i>E. coli</i> (O6)	Culture	négatif
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Culture	négatif
<i>Entamoeba histolytica</i>	Culture	négatif
<i>Enterobacter cloacae</i>	Culture	négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	Culture	négatif
Giardia lamblia	Échantillon de selles	négatif
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Culture	négatif
<i>Proteus vulgaris</i>	Culture	négatif
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Culture	négatif
Rotavirus	Surnageant de culture de cellules	négatif
<i>Salmonella enteritidis</i>	Culture	négatif
<i>Salmonella typhimurium</i>	Culture	négatif
<i>Serratia liquefaciens</i>	Culture	négatif
<i>Shigella flexneri</i>	Culture	négatif
<i>Staphylococcus aureus</i>	Culture	négatif
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Culture	négatif
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Culture	négatif
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Culture	négatif

### 13.4 Substances interférentes

Les substances énumérées ci-après n'ont eu aucun effet sur les résultats de test, après avoir été ajoutées aux échantillons de selles norovirus positifs et négatifs dans les concentrations indiquées :

Lopéramide	5 % m/m	Sulfate de bayum	5 % m/m
Peptobismol	5 % v/m	Cyclamate	5 % v/m
Sang humain	5 % v/w		
Acide stéarique / acide palmitique (1:1 mélange)	40 % m/m	Métronidazole 0,5	5 % v/m
Mucine	5 % m/m	Diclofénac	0,00263 % v/m

### 14. Historique des versions

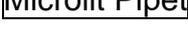
Numéro de version	Chapitre et désignation
2012-10-26	Version précédente
2019-07-08	Révision générale 4. Contenu du paquet 7. Mesures de précaution 8. Prélèvement et conservation des échantillons

## 15. Signification des symboles

### Symboles généraux

	Pour le diagnostic <i>in-vitro</i>
	Respecter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de stockage
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

### Symboles spécifiques au test

	Cassette de test
	Réactif A
	Réactif B
	Pipette jetable
	Flacon de réaction
	Pointe de pipette
	Pipette microlitre

## 16. Bibliographie

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