

## RIDA® QUICK Norovirus

**REF** N1402



## **1. Zweckbestimmung**

Für die *in vitro* Diagnostik. Der RIDA®QUICK Norovirus Test ist ein qualitativer immunchromatografischer Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Noroviren der Genogruppe 1 (GG I) und Genogruppe 2 (GG II) in Stuhlproben. Er dient als Hilfsmittel bei der Diagnose einer Gastroenteritis und wird verwendet für die Untersuchung von Stuhlproben von Kindern und Erwachsenen, deren Symptome eine Norovirus-bedingte Gastroenteritis vermuten lassen.

## **2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests**

Noroviren sind eine weltweit bedeutende Ursache von Gastroenteritis mit geschätzt 23 Millionen jährlichen Fällen in den USA (1, 2). Sie sind häufig an Ausbrüchen in Gemeinschaftseinrichtungen wie Pflegeheimen, Krankenhäusern, Kindertagesstätten, Gefängnissen und auf Kreuzfahrtschiffen (3, 4, 5) beteiligt. Ausbrüche mit Noroviren werden häufiger berichtet als Ausbrüche durch bakterielle Erreger und können einen beachtlichen Einfluss auf die öffentliche Gesundheit ausüben (6).

Der auf monoklonalen Antikörpern aufgebaute RIDA®QUICK Norovirus Test ermöglicht den schnellen und zuverlässigen Nachweis von Norovirus-Antigenen in Stuhlproben und unterstützt damit ein zügiges Patienten-Management. Der Schnelltest ist eine einfache und sensitive Methode, um Antigene der beiden Norovirus-Genogruppen I und II nachzuweisen. Seine Verwendung eignet sich insbesondere bei kleinen Probenreihen.

## **3. Testprinzip**

Der vorliegende Schnelltest ist ein einstufiger immunchromatografischer Lateral-Flow Test, bei dem sowohl biotinylierte als auch goldmarkierte Anti-Norovirus-Antikörper eingesetzt werden. Sobald in einer positiven Probe Noroviren vorhanden sind, bilden sich Immunkomplexe mit den markierten Anti-Norovirus-Antikörpern aus, die dann durch die Membran laufen. Das an der Testlinie T befindliche Streptavidin bindet die heran fließenden Immunkomplexe über das an die Anti-Norovirus-Antikörper gekoppelte Biotin und führt so zu einer rot-violetten Färbung der T-Linie. An der nachfolgenden Kontrolllinie C werden durchlaufende nicht komplexierte goldmarkierte Antikörper gebunden. Bei negativen Proben erfolgt demnach keinerlei Bindung goldmarkierter Immunkomplexe an der T-Linie, sondern nur an der C-Linie. Die rote C-Linie zeigt stets an, ob der Testverlauf valide war.

## 4. Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 25 Bestimmungen.

Cassette	25 Best.	25 einzeln verpackte Testkassetten
Reagent A	13,5 ml	Spezifische Anti-Norovirus-Antikörper (Maus); enthält 0,05 % Natriumazid, gebrauchsfertig blau gefärbt
Reagent B	13,5 ml	Spezifische Anti-Norovirus-Antikörper (Maus); enthält 0,05 % Natriumazid, gebrauchsfertig, gelb gefärbt
Pipet	25 Stk.	Beutel mit 25 Einwegpipetten
Reagent vial	25 Stk.	Beutel mit 25 Reaktionsgefäßen
Pipet Tip	25 Stk.	Beutel mit 25 Pipettenspitzen
Microlit Pipet	1 Stk.	Pipette für 150 µl-Volumen

Gefahrstoffangabe gemäß Kennzeichnungspflicht. Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) auf [www.biopharm.com](http://www.biopharm.com).

## 5. Reagenzien und ihre Lagerung

Die Packung kann bei 2 - 25 °C gelagert werden und ist bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendungsfähig. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden. Ebenso kann eine Verwendungsfähigkeit von Kassetten dann nicht mehr gewährleistet werden, wenn die Kassettenverpackung beschädigt ist.

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

### 6.1 Benötigte Reagenzien

Es werden keine zusätzlichen Reagenzien für die Durchführung benötigt.

### 6.2 Benötigtes Laborzubehör

Folgendes Zubehör wird für die Durchführung benötigt:

Zubehör
Vortex Mixer (optional)
Abfallbehälter mit einer 0,5 %igen Natrium-Hypochloritlösung

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in vitro* Diagnostik.

Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten. Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.

Während des Umgangs mit **Reagenzien** und Proben **persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille)** tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen. In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) [www.biopharm.com](http://www.biopharm.com).

Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Die Reagenzien enthalten als Konservierungsmittel 0,05 % Natriumazid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden.

Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, müssen genau wie diese mit geeigneten Desinfektionsmitteln (z.B. Natrium-Hypochlorit) behandelt oder mindestens eine Stunde bei 121 °C autoklaviert werden.

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

Stuhlproben sind in sauberen Behältern zu sammeln und vor Testbeginn bei 2 - 8 °C zu lagern. Bei Lagerung von mehr als 3 Tagen muss die Probe bei - 20 °C eingefroren werden (Tab. 1). In diesem Fall wird die Probe vor Testbeginn vollständig aufgetaut und auf Raumtemperatur gebracht. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen der Probe ist zu vermeiden. Wenn rektale Abstriche eingesetzt werden sollen, ist darauf zu achten, dass genügend Stuhlmaterial (ca. 50 mg) zur Testdurchführung vorhanden ist.

### Tab. 1: Probenlagerung

#### Unverdünnte Stuhlproben

2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 Tage	> 3 Tage

## 9. Testdurchführung

### 9.1 Allgemeines

Vor Verwendung sind die Proben, die Reagenzien sowie die Testkassetten auf Raumtemperatur (20 - 25 °C) zu bringen. Die Testkassetten sollen erst kurz vor Verwendung der Umverpackung entnommen werden. Einmal benutzte Kassetten dürfen nicht wiederverwendet werden. Direkte Sonneneinstrahlung während der Testdurchführung ist zu vermeiden. Überschüssiges Reagenz darf nicht wieder in die Gefäße zurückgegeben werden, da dies zu einer Kontamination führen kann.

### 9.2 Vorbereitung der Probestellung

In ein gekennzeichnetes Reaktionsgefäß **Reagent vial** werden je **0,5 ml** (ca. 12 - 14 Tropfen) Reagenz A **Reagent A** und Reagenz B **Reagent B** vorgelegt. Dabei ist **vorrangig** die Graduierung 0,5 ml und 1,0 ml am Reaktionsgefäß unabhängig von der jeweiligen Tropfenanzahl der Reagenzien A und B zu beachten. Die Reagenzien A und B müssen im Verhältnis **1+1** vorliegen.

#### 9.2.1 Verwendung von Stuhlproben

Im Falle einer **flüssigen** Stuhlprobe werden mit der Einwegpipette **Pipet** 50 µl (bis zur zweiten Verdickung) im vorgelegten Reagenzienmix suspendiert.

Bei **fester** Stuhlprobe werden analog ca. 50 mg suspendiert. Anschließend wird das Reaktionsgefäß gut verschlossen und die Probe durch gründliches Mischen (optional durch vortexen) homogenisiert. Danach muss die homogene Suspension **5 Minuten** sedimentieren, damit sich ein weitgehend partikelfreier Überstand bildet. Zur Sedimentation kann das Reaktionsgefäß in eine der drei mittleren Öffnungen des Reagenzieneinsatzes eingestellt werden.

### 9.3 Proben-Testung

Die der Umverpackung entnommene Testkassette **Cassette** wird auf eine ebene Unterlage gelegt. Danach wird eine unbenutzte Pipettenspitze **Pipet Tip** auf die Microlitpipette **Microlit Pipet** gesetzt und 150 µl Überstand aus dem jeweiligen Reaktionsgefäß entnommen und in das Applikationsfeld der Testkassette pipettiert. Es ist darauf zu achten, dass die Flüssigkeit ungehindert durch die Membran läuft. Bei richtiger Durchführung erscheint die Kontrollbande an der Kontrolllinie C nach etwa 3 Minuten. Sollte die Kontrolllinie nicht nach 3 Minuten sichtbar sein, so muss eine erneut hergestellte Probe stärker sedimentiert werden (optional durch eine 2-minütige Zentrifugation bei 2000 g) und in das Applikationsfeld einer neuen Testkassette pipettiert werden.

Das Testergebnis ist immer nach **15 Minuten** abzulesen. Die Färbung der Banden und deren Intensität kann sich während der Gesamtentwicklungszeit und nach Trocknung des Streifens verändern von rot-violett nach blau- bis grau-violett.

## 10. Qualitätskontrolle – Anzeichen für Reagenzienverfall

Der Test ist nur auszuwerten, wenn die Testkassette vor dem Einpipettieren der Probensuspension unversehrt ist und keine farbigen Veränderungen oder Banden darauf zu sehen sind. Ferner muss nach der 15-minütigen Inkubationszeit mindestens die rotviolette Kontrollbande sichtbar sein. Erscheint diese nicht, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu prüfen:

- Haltbarkeit der Testkassetten und der verwendeten Reagenzien
- Korrekte Testdurchführung
- Kontamination der Reagenzien

Ist danach bei Wiederholung des Tests mit einer neuen Testkassette die Kontrollbande wiederum nicht sichtbar, wenden Sie sich bitte an den Hersteller oder Ihren lokalen R-Biopharm Distributor.

## 11. Auswertung und Interpretation

Es dürfen maximal zwei Banden erscheinen, vom Probenapplikationsfeld aus gesehen in folgender Reihenfolge: Eine rot-violette Reaktionsbande an der Testlinie T und eine rot-violette Kontrollbande an der Kontrolllinie C. **Fehlt die Kontrollbande ist der Test nicht auswertbar und ungültig!**

Folgende Interpretationen sind möglich:

- **Norovirus positiv** : beide Banden sind sichtbar.
- **Norovirus negativ** : nur die Kontrollbande ist sichtbar.
- **Ungültig** : keine Bande ist sichtbar oder eine andere Konstellation als oben beschrieben. Ebenso sind Banden-Verfärbungen, die erst deutlich später als nach 15 Minuten auftreten, ohne diagnostischen Wert und nicht zu beurteilen.

## 12. Grenzen der Methode

Der RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus weist spezifisch Noroviren der GGI und GGII in Stuhlproben nach. Ein Zusammenhang zwischen der Intensität der sichtbaren spezifischen Bande und dem Auftreten oder der Schwere klinischer Symptome kann hieraus nicht abgeleitet werden. **Die erzielten Ergebnisse sind immer in Verbindung mit dem vollständigen klinischen Bild zu interpretieren.**

Ein **positives** Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer infektiöser Erreger oder Ursachen nicht aus.

Ein **negatives** Ergebnis schließt eine mögliche Infektion mit Noroviren nicht aus. Dies kann durch intermittierende Ausscheidung des Erregers oder durch eine zu geringe Menge an Noroviren in der Probe verursacht sein. Besteht anamnestisch der begründete Verdacht auf eine Infektion mit dem gesuchten Erreger, sollte eine weitere Stuhlprobe des Patienten untersucht werden.

Ein Überschuss an Stuhlprobe kann eine bräunliche Verfärbung des Teststreifens verursachen, die die rot-violette Färbung der spezifischen Testbande überlagert. In solchen Fällen ist eine erneute Testung mit einer geringeren Stuhlmenge oder einer durch Zentrifugation stärker geklärten Stuhlsuspension erforderlich, um zu klären, ob Noroviren doch in der Probe vorliegen, jedoch durch zu viel eingesetzte Stuhlmatrix die spezifische Testbande überlagert wurde.

## 13. Leistungsmerkmale

### 13.1 Klinische Sensitivität und Spezifität

In einer Validierungsstudie wurden insgesamt 75 Stuhlproben (frische und gefroren asservierte Proben) im RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus im Vergleich zur real time RT-PCR für Noroviren der Genogruppen 1 und 2 gemessen. Die Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 2 dargestellt.

**Tab.2:** Sensitivität und Spezifität des RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus im Vergleich zur real time RT-PCR

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

Sensitivität : 92,0 %

Spezifität : 98,0 %

PPV: 95,8 %

NPV: 96,1 %

### 13.2 Präzision

Zur Bestimmung der Präzision des RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus Tests wurden die Intra-Assay-Reproduzierbarkeit (10 Replikate / 1 Tag / 1 Operator / 1 Lot), die Inter-Tag-Reproduzierbarkeit (3 Replikate / 10 Tage / 1 Operator / 1 Lot), die Inter-Operator-Reproduzierbarkeit (3 Replikate / 1 Tag / 3 Operatoren / 1 Lot) und die Inter-Lot-Reproduzierbarkeit (3 Replikate / 1 Tag / 1 Operator / 3 Lots) untersucht. Für jede Untersuchung wurden 5 Referenzen gemessen: eine negative, zwei schwach positive und zwei mittelstark positive. Der RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus Test zeigte in 100 % der Messungen das erwartete Ergebnis.

### 13.3 Kreuzreaktivität

Verschiedene pathogene Keime des Intestinaltraktes wurden mit dem RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus Test untersucht und zeigten keine Kreuzreaktivität. Durchgeführt wurden die Untersuchungen mit Bakteriensuspensionen ( $10^7$  bis  $10^9$  cfu/ml), mit Parasitenkulturen ( $10^7$  bis  $10^9$  Organismen/ml), mit Zellkulturüberständen virusinfizierter Zellen und einer Stuhlprobe.



Die Ergebnisse sind in folgender Tabelle aufgelistet:

Testkeim	Herkunft	Ergebnis
Adenovirus	Zellkulturüberstand	negativ
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Kultur	negativ
Astrovirus	Zellkulturüberstand	negativ
<i>Bacillus cereus</i>	Kultur	negativ
<i>Bacteroides fragilis</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter coli</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter fetus</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter jejuni</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter lari</i>	Kultur	negativ
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Kultur	negativ
<i>Candida albicans</i>	Kultur	negativ
<i>Citrobacter freundii</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium difficile</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium perfringens</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium sordellii</i>	Kultur	negativ
<i>Clostridium sporogenes</i>	Kultur	negativ
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O6)	Kultur	negativ
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Kultur	negativ
<i>Entamoeba histolytica</i>	Kultur	negativ
<i>Enterobacter cloacae</i>	Kultur	negativ
<i>Enterococcus faecalis</i>	Kultur	negativ
<i>Giardia lamblia</i>	Stuhlprobe	negativ
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Kultur	negativ
<i>Proteus vulgaris</i>	Kultur	negativ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Kultur	negativ
Rotavirus	Zellkulturüberstand	negativ
<i>Salmonella enteritidis</i>	Kultur	negativ
<i>Salmonella typhimurium</i>	Kultur	negativ
<i>Serratia liquefaciens</i>	Kultur	negativ
<i>Shigella flexneri</i>	Kultur	negativ
<i>Staphylococcus aureus</i>	Kultur	negativ
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kultur	negativ
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Kultur	negativ
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Kultur	negativ

### 13.4 Interferierende Substanzen

Die nachfolgend aufgeführten Substanzen zeigten keinen Effekt auf die Testergebnisse, wenn sie in Norovirus positive und negative Stuhlproben in den angegebenen Konzentrationen eingemischt wurden:










Loperamid	5 % w/w	Bariumsulfat	5 % w/w
Pepto-Bismol	5 % v/w	Cyclamat	5 % v/w
Humanblut	5 % v/w		
Stearinsäure/ Palmitinsäure (1:1)	40 % w/w	Metronidazol 0.5	5 % v/w
Mucin	5 % w/w	Diclofenac	0,00263 % v/w

### 14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2012-10-26	Vorversion
2019-07-08	Generelle Überarbeitung 4. Packungsinhalt 7. Vorsichtsmaßnahmen 8. Sammlung und Lagerung der Proben

### 15. Symbolerklärung

Allgemeine Symbole

	In-vitro-Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

## Testspezifische Symbole

<b>Cassette</b>	Testkassette
<b>Reagent A</b>	Reagenz A
<b>Reagent B</b>	Reagenz B
<b>Pipet</b>	Einwegpipette
<b>Reagent vial</b>	Reaktionsgefäß
<b>Pipet Tip</b>	Pipettenspitze
<b>Microlit Pipet</b>	Micropipette

## 16. Literatur

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