

## RIDA® QUICK Norovirus

**REF** N1402



## **1. Campo di applicazione**

Per diagnostica *in vitro*. Il RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus è un test rapido immunocromatografico per la rilevazione qualitativa di norovirus del genogruppo 1 (GG I) e del genogruppo 2 (GG II) in campioni di feci. Trova impiego nella diagnosi della gastroenterite e viene utilizzato per l'esame di campioni di feci di bambini e adulti, i cui sintomi inducono al sospetto di gastroenterite da norovirus.

## **2. Sintesi e spiegazione del test**

I norovirus sono una importante causa di gastroenterite su scala mondiale con 23 milioni di casi annui stimati negli USA (1, 2). Tali virus sono spesso coinvolti nelle manifestazioni in luoghi di ritrovo comuni quali istituti di cura, ospedali, micronidi, istituti penitenziari e navi da crociera (3, 4, 5). Le manifestazioni con norovirus vengono spesso descritte come manifestazioni provocate da agenti batterici e possono influire considerevolmente sulla salute pubblica (6). Il test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus, realizzato con anticorpi monoclonali, consente una rilevazione rapida e attendibile di antigeni di norovirus in campioni di feci, consentendo una rapida gestione dei pazienti. Il test rapido è un metodo semplice e sensibile per la rilevazione di antigeni di norovirus di entrambi i genogruppi I e II. Il test è particolarmente indicato in piccole serie di campioni.

## **3. Principio del test**

Il presente test veloce è un test immunocromatografico Lateral Flow ad un livello per il quale vengono impiegati sia gli anticorpi biotinilati che quelli anti-norovirus segnati con color oro. Se dei norovirus sono presenti in un campione positivo, si creano complessi immuni con gli anticorpi anti-norovirus segnati che passano nella membrana. La streptavidina che si trova nella linea del test T fissa i complessi immuni in arrivo mediante la biotina accoppiata all'anticorpo anti-norovirus e si verifica una colorazione rosso violaceo della linea T. Sulla successiva linea di controllo C vengono fissati anticorpi continui, segnati con color oro non complessi. Nei campioni negativi i complessi immuni segnati con color oro non vengono fissati sulla linea T, bensì sulla linea C. La linea C rossa indica sempre se il decorso del test è stato valido.

#### 4. Contenuto della confezione

I reagenti di una confezione bastano per 25 determinazioni.

Cassette	25 det.	25 cassette singole per cassette test imballate
Reagent A	13,5 ml	anticorpi specifici anti-norovirus (topo); contiene lo 0,05% di azoturo; pronto per l'uso, di colore blu.
Reagent B	13,5 ml	anticorpi specifici anti-norovirus (topo); contiene lo 0,05% di azoturo; pronto per l'uso, di colore giallo.
Pipet	25	Busta con 25 pipette monouso
Reagent vial	25	Busta con 25 recipienti per reazione
Pipet Tip	25	Busta con 25 punte pipette
Microlit Pipet	1	Pipette per 150 µl volumina

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)).

#### 5. Istruzioni di conservazione

La confezione deve essere conservata a 2 - 25 °C ed è utilizzabile fino alla data di scadenza in-dicata. Dopo la data di scadenza non può essere più fornita alcuna garanzia di qualità. Non si può altro modo assicurare l'utilizzabilità delle cassette nel caso in cui la confezione delle stesse sia stata danneggiata.

#### 6. Reagenti necessari ma non in dotazione

##### 6.1 Reagenti necessari

Non sono necessari reagenti aggiuntivi per eseguire questo test.

##### 6.2 Attrezzatura di laboratorio necessaria

Per eseguire questo test è necessaria la seguente attrezzatura:

Attrezzatura
Vorticatore (opzionale)
Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5 %

## 7. Avvertenze e misure precauzionali

Esclusivamente per la diagnostica *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso. Non pipettare campioni o reagenti con la bocca. Evitare il contatto con lesioni cutanee e mucose. Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, grembiule e occhiali di protezione adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere negli ambienti in cui si opera con i campioni.

Per ulteriori dettagli consultare le schede dei dati di sicurezza (SDS [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)).

Garantire uno smaltimento idoneo e responsabile di tutti i reagenti e i materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

I reagenti contengono azoturo di sodio come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguati disinfettanti (ad es. ipoclorito di sodio) o sottoposti a sterilizzazione a vapore per almeno un'ora a 121 °C.

## 8. Raccolta e conservazione dei campioni

Raccogliere i campioni di feci in contenitori puliti senza additivi e prima di iniziare il test deporli a 2 - 8°C. In caso di deposito per più di 3 giorni occorre congelare il campione a - 20 °C (Tabella 1). In questo caso far scongelare completamente il campione prima di iniziare il test e por-tarlo a temperatura ambiente. Evitare assolutamente il ripetuto congelamento e scongelamento dei campioni. Se devono essere impiegati tamponi rettali occorre assicurarsi che sia disponibile abbastanza campione di feci (circa 50 mg) per l'esecuzione del test.

**Tab. 1: Conservazione del campione**

Campioni di feci non diluiti	
2 - 8 °C	≤ - 20 °C
≤ 3 giorni	> 3 giorni

## 9. Esecuzione del test

### 9.1 Informazioni generali

Prima dell'utilizzo portare tutti i campioni, i reagenti e le cassette per il test a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Togliere l'involucro delle cassette per il test solo poco prima del loro impiego. Le cassette non possono essere utilizzate più di una volta. Evitare l'esposizione diretta ai raggi solari durante l'esecuzione del test. Il reagente avanzato non deve riessere inserito nei contenitori in quanto potrebbe contaminarli.

### 9.2 Preparazione della prova dei campioni

In un recipiente per reazione contrassegnato **Reagent vial** vengono inserite rispettivamente **0,5 ml** di gocce di reagente A **Reagent | A** e di reagente B **Reagent | B**. Attenersi rigorosamente alle misure 0,5 ml e 1,0 ml indicate sul recipiente per reazione. I reagenti A e B **devono** essere in rapporto 1 : 1.

#### 9.2.1 Impiego dei campioni di feci

In caso di un campione di feci **fluidi** occorre mantenerlo in sospensione mediante la pipetta monouso **Pipet** 50 µl (fino al secondo ispessimento) nella miscela di reagenti preparata.

In caso di campione di feci **solido** esso viene analogamente mantenuto in sospensione a circa 50 mg. Infine chiudere bene il recipiente per reazione ed omogeneizzare il campione mescolando a fondo (vi è la possibilità di vorticare). Successivamente lasciare sedimentare la sospensione omogenea per **5 minuti** in modo che si formi un supernatante senza particelle. Per la sedimentazione il recipiente per reazione deve essere regolato su una delle tre aperture centrali della ricarica di reagenti.

### 9.3 Test dei campioni

Prelevare la cassetta **Cassette** dal suo involucro e posizionarla su una base piana. Successivamente collocare una punta da pipette non utilizzata **Pipet Tip** sulla pipetta **Microlit Pipet** e prelevare 150 µl di supernatante dal rispettivo recipiente a reazione per inserirlo mediante pipetta nel campo di applicazione della cassetta per il test. Assicurarsi che il fluido scorra senza ostacoli sulla membrana. Se l'esecuzione è avvenuta correttamente dopo circa 3 minuti si visualizza la banda di controllo sulla linea C. Se dopo 3 minuti non si dovesse vedere la linea di controllo occorre far sedimentare più intensamente un campione prodotto nuovamente (possibilmente mediante una centrifugazione di 2 minuti a 2000 g) e inserirlo mediante pipetta nel campo di applicazione di una nuova cassetta per test.

Il risultato del test è sempre leggibile dopo **15 minuti**. La colorazione delle bande durante tutto il tempo di sviluppo si può intensificare e dopo l'essiccazione della striscia può cambiare da rosso violaceo a blu, grigio violaceo.

## 10. Controllo qualità: indicazioni di instabilità o deterioramento dei reagenti

E' possibile analizzare il test solamente se la cassetta per test è intatta prima dell'inserimento mediante pipette della sospensione di campioni e se sulla stessa non sono visibili mutamenti di colore o bande colorate. Inoltre dopo 15 minuti di tempo di incubazione deve essere almeno visibile la banda di controllo rosso violaceo. Se non compare, prima della ripetizione del test verificare quanto segue:

- Periodo di conservazione della cassetta per test e dei reagenti utilizzati
- Corretta esecuzione del test
- Contaminazione dei reagenti

Se anche in caso di ripetizione del test con una nuova cassetta da test non compare la banda di controllo, rivolgersi al produttore o al distributore locale R-Biopharm.

## 11. Valutazione e interpretazione

Possono comparire al massimo due bande, dalla prospettiva del campo di applicazione dei campioni nella seguente sequenza: Una banda di reazione rosso violacea sulla linea del test T ed una banda di controllo rosso violacea sulla linea di controllo C. **Se manca la banda di controllo non si può analizzare il test che risulta pertanto non valido!**

Sono possibili le seguenti interpretazioni:

- **Norovirus positivo:** entrambe le bande sono visibili.
- **Norovirus negativo:** è visibile solo la banda di controllo.
- **Non valido:** Nessuna banda visibile o in un'altra costellazione rispetto a quanto sopra descritto. Anche colorazioni delle bande che dovessero comparire molto dopo i 15 minuti non hanno valore diagnostico e non sono pertanto analizzabili.

## 12. Limiti del metodo

Il RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus attesta la presenza specifica di norovirus dei genogruppi GGI e GGII in campioni di feci. Non è possibile dedurre una relazione tra l'intensità delle bande specifiche visibili e l'insorgenza o la gravità della sintomatologia clinica. **I risultati ottenuti devono essere sempre interpretati in relazione al quadro clinico.**

Un risultato **positivo** non esclude la presenza di altri agenti patogeni infettivi.

Un risultato **negativo** non esclude la possibile infezione con norovirus. Essa può essere causata da espulsione intermittente dell'agente patogeno o da quantità troppo bassa di norovirus nel campione. Se in relazione all'anamnesi vi è un sospetto fondato di un'infezione con l'agente patogeno ricercato, occorre esaminare un ulteriore campione di feci del paziente.

Un'eccedenza di campione di feci può causare una colorazione marrone delle strisce del test che si va a sovrapporre alla colorazione rosso violaceo della banda del test specifica. In questi casi è necessario eseguire un nuovo test con minor quantità di feci o con una sospensione di feci maggiormente chiarificata mediante centrifugazione, al fine di capire se sono presenti norovirus nel campione, e tuttavia la banda del test specifica è stata sovrapposta da troppa matrice di feci impiegata.

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1 Sensibilità e specificità clinica

In uno studio di convalida sono stati misurati in totale 75 campioni di feci (campioni appena prelevati o congelati) nel RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus a confronto del real time RT-PCR per norovirus dei genogruppi 1 e 2. I risultati sono elencati nella seguente tabella.

**Tab.2:** Sensibilità e specificità del RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus a confronto con real time RT-PCR

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

Sensibilità: 92.0 %

Specificità: 98.0 %

PPV: 95.8 %

NPV: 96.0 %

### 13.2 Precisione

Per stabilire la precisione del test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus sono state esaminate la riproducibilità Intra-Assay (10 replicazioni / 1 giorno / 1 operatore / 1 lotto), la riproducibilità Inter-Tag (3 replicazioni/ 10 giorni/ 1 operatore / 1 lotto), la riproducibilità Inter-Operator (3 replicazioni / 1 giorno / 3 operatori / 1 lotto) e la riproducibilità Inter-Lot (3 replicazioni / 1 giorno / 1 operatore / 3 lotti). Per ogni esame sono state misurate 5 referenze: una negativa, due leggermente positive e due medioforti positive. Il test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus ha attestato in 100% delle misurazioni il risultato previsto.

### 13.3 Reattività incrociata

Sono stati esaminati diversi germi patogeni del tratto gastrointestinale con il test RIDA<sup>®</sup>QUICK Norovirus e non sono emersi casi di crossreattività. Sono stati eseguiti esami con sospensioni di batteri (da 10<sup>7</sup> a 10<sup>9</sup> cfu/ml), con colture di parassiti (da 10<sup>7</sup> a 10<sup>9</sup> organismi/ml), con cellule infettate con il virus del supernatante della coltura di cellule e un campione di feci.



I risultati sono elencati nella seguente tabella:

Germe del test	Origine / Fonte	Risultato
Adenovirus	Supernatante della coltura di cellule	Negativo
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Coltura	Negativo
Astrovirus	Supernatante della coltura di cellule	Negativo
<i>Bacillus cereus</i>	Coltura	Negativo
<i>Bacteroides fragilis</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter coli</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter fetus</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter jejuni</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter lari</i>	Coltura	Negativo
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	Coltura	Negativo
<i>Candida albicans</i>	Coltura	Negativo
<i>Citrobacter freundii</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium difficile</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium perfringens</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium sordellii</i>	Coltura	Negativo
<i>Clostridium sporogenes</i>	Coltura	Negativo
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Coltura	Negativo
<i>E. coli</i> (O26:H-)	Coltura	Negativo
<i>E. coli</i> (O6)	Coltura	Negativo
<i>E. coli</i> (O157:H7)	Coltura	Negativo
<i>Entamoeba histolytica</i>	Coltura	Negativo
<i>Enterobacter cloacae</i>	Coltura	Negativo
<i>Enterococcus faecalis</i>	Coltura	Negativo
Giardia lamblia	Campione di feci	Negativo
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Coltura	Negativo
<i>Proteus vulgaris</i>	Coltura	Negativo
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coltura	Negativo
Rotavirus	Supernatante della coltura di cellule	Negativo
<i>Salmonella enteritidis</i>	Coltura	Negativo
<i>Salmonella typhimurium</i>	Coltura	Negativo
<i>Serratia liquefaciens</i>	Coltura	Negativo
<i>Shigella flexneri</i>	Coltura	Negativo
<i>Staphylococcus aureus</i>	Coltura	Negativo
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Coltura	Negativo
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Coltura	Negativo
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Coltura	Negativo

### 13.4 Sostanze interferenti

Le seguenti sostanze non hanno avuto nessun effetto sui risultati del test quando sono state mescolate con le concentrazioni indicate nei campioni di feci positivi e negativi norovirus:










Loperamid	5 % w/w	Solfato di bario	5 % w/w
Pepto-bismol	5 % v/w	Ciclammato	5 % v/w
Sangue umano	5 % v/w		
Acido stearico / acido palmitico (1:1 miscela)	40 % w/w	Metronidazole 0,5	5 % v/w
Muzin	5 % w/w	Diclofenac	0,00263 % v/w

### 14. Cronologia delle versioni


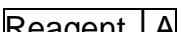
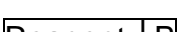

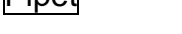
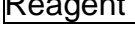

Numero della versione	Capitolo e designazione
2012-10-26	Versione precedente
2019-07-08	Revisione generale 4. Contenuto della confezione 7. Avvertenze e misure precauzionali 8. Raccolta e conservazione dei campioni 9.2 Preparazione della prova dei campioni

## 15. Descrizione simboli

### Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici del test

	Cassetta del test
	Reagente A
	Reagente B
	Pipette monouso
	Falcone di reagente
	Punte pipette
	Pipette per 150 µl volumina

## 16. Bibliografia

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