

NOROVIRUS

Per uso diagnostico *in Vitro*

Test immunocromatografico per la determinazione simultanea e differenziata di *Norovirus* genotipi I e II in campioni fecali

I. INTRODUZIONE E DESTINAZIONE D'USO

I Norovirus, appartengono alla famiglia Calciviridae, sono un gruppo di più di 40 virus estremamente eterogenei. L'infezione è tipicamente caratterizzata da vomito e diarrea, con sintomi che durano 12-60 h. I Norovirus sono divisi in cinque genotipi distinguibili (GI-GV) sulla base di similarità di sequenza del genoma, ma solo ceppi di virus da genotipi I-II sono noti per infettare gli esseri umani. Ceppi supplementari di genotipo IV sono stati individuati e rilevati nelle feci umane. I Norovirus all'interno di un genotipo possono differire fino al 40% nella sequenza aminoacidica del capside e tra genotipi diversi di più del 50%. NOROVIRUS è un test rapido immunocromatografico su card per la determinazione qualitativa di genotipi Norovirus I e II antigeni in campioni di feci umane per aiutare nella diagnosi di infezione da Norovirus.

II. PRINCIPIO DEL TEST

NOROVIRUS è un test immunologico qualitativo per la rilevazione di Norovirus GI e GII antigeni in campioni di feci umane. La membrana è pre-rivestita nella zona assorbente (pad) con anticorpi anti Norovirus GI e GII e gli stessi anticorpi sono adsorbiti sulla zona area test. Durante il test il campione reagisce con le particelle rivestite con anti-Norovirus GI e anti-Norovirus GII anticorpi che sono state pre-essiccate sulla striscia reattiva. La miscela si sposta lungo la membrana per azione capillare. Nel caso di un risultato positivo gli anticorpi specifici presenti sulla membrana reagiscono con la miscela di coniugati e generano una o due bande colorate. Una banda di controllo di colore verde appare sempre (terza linea) per indicare che è stato aggiunto un volume sufficiente di campione, che è stato ottenuto un corretto flusso e come controllo interno per i reagenti.

III. REAGENTI E MATERIALI

Il kit contiene i seguenti componenti:

NOROVIRUS (25): ogni card è imbustata singolarmente con essiccante

Diluente-Tampone di estrazione (25x1.0 mL tubi LIQ.EXTR): soluzione salina contenente conservante NaN_3 (<0,1%) e tensioattivo.

Materiali necessari (non forniti)

Dispositivi per la raccolta dei campioni; Guanti monouso; Pipette gocciolatrici; Cronometro

IV. PRECAUZIONI

- Per uso diagnostico *in vitro* e per solo uso professionale.
- Non utilizzare il kit oltre la data di scadenza, non utilizzare reagenti provenienti da altri lotti
- Seguire le istruzioni per l'uso scrupolosamente.
- Il test è da considerarsi monouso. Non riutilizzare la card per altri test.
- Il test deve rimanere nella confezione sigillata fino al momento dell'uso.
- Seguire le Buone Pratiche di Laboratorio, indossare indumenti protettivi e guanti monouso, non mangiare bere o fumare nell'area di lavoro.
- Tutti i campioni devono essere considerati potenzialmente pericolosi e manipolati nello stesso modo di agenti infettivi.
- Il test deve essere eliminato in apposito contenitore in accordo alle Norme vigenti.

V. STOCCAGGIO E STABILITÀ

Conservare il dispositivo sigillato ad una temperatura compresa tra 2 e 30°C (36-86°F). Il kit è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta. Il dispositivo deve restare sigillato fino al momento dell'uso. Non congelare.

VI. RACCOLTA CAMPIONI E PREPARAZIONE

I campioni di feci testati entro 2 ore dalla raccolta non richiedono refrigerazione. I campioni non testati entro 2 ore dalla raccolta devono essere conservati a 2-8°C e possibilmente testati entro 24 - 48 ore dalla raccolta. Qualora i campioni non possano essere testati entro 48 ore, conservare in congelatore a $\leq -20^\circ\text{C}$. Non congelare e scongelare ripetutamente i campioni, in quanto ciò potrebbe portare a risultati errati. I campioni conservati in frigorifero devono essere riportati a temperatura ambiente prima dell'uso. I campioni congelati devono essere completamente scongelati e miscelati prima del loro utilizzo.

VII. PROCEDURA ANALITICA

Rivedere istruzioni "di raccolta dei campioni". Non aprire gli involucri fino al momento di eseguire il test. Assicurarsi che tutti i reagenti siano a temperatura ambiente prima di iniziare il dosaggio.

Procedimento per il campione

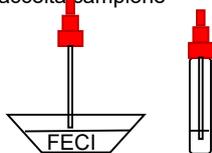
Usare materiale distinto per ogni campione. Aprire il flacone contenente il tampone di estrazione (1 mL) svitando il tappo. Immergere in 3 punti diversi delle feci raccolte il segmento del tappo con l'estremità zigrinata. Estrarre l'estremità zigrinata dalle feci, e verificare di aver raccolto una piccola parte, pari a un chicco di riso (15-250 mg) delle feci stesse. Riposizionare il tappo sul flacone del tampone di estrazione, così che l'estremità zigrinata si immerga nel liquido stesso. Agitare delicatamente fino ad ottenere una sospensione omogenea. Per feci liquide o semi-solide usare una pipetta di trasferimento, prelevando una quantità di feci dal campione stesso. Dispensare 250µL del campione fecale nel flacone di liquido di estrazione del campione. Agitare delicatamente, quindi agitare su vortex per 15 secondi.

Procedimento del test: Portare i reattivi e il campione a temperatura ambiente prima di effettuare il test.

1. Estrarre la card dalla busta ed usare il prima possibile e usare materiale pulito per ciascun campione.
2. Rompere il tappo del tubo di estrazione.
3. Dispensare 4 gocce di campione (100 µL) nella finestra circolare della card. Far partire il cronometro.
4. Attendere 10 minuti quindi osservare la comparsa di bande colorate nelle finestre contrassegnate con "T" e "C".

Illustrazione 1

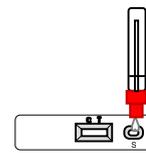
Raccolta campione



Miscelare il campione con il tampone



Rompere il tappo



Addizionare 4 gocce della miscela tampone-campione



VIII. INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

POSITIVO: *Norovirus GI* positivo: compaiono due linee nella finestra centrale, nella zona del risultato (linea del test rosso, indicato nella figura con la lettera T1) e nella zona di controllo (linea di controllo verde, segnato nella figura con la lettera C).

***Norovirus GII* positivo:** compaiono due linee nella finestra centrale, nella zona del risultato (linea del test rosso, indicato nella figura con la lettera T2) e nella zona di controllo (linea di controllo verde, segnato nella figura con la lettera C).

***Norovirus GI –GII* positivo:** compaiono tre linee nella finestra centrale, nella zona del risultato (due linee rosso, indicato nella figura con la lettera T1 e TII) e nella zona di controllo (linea di controllo verde, segnato nella figura con la lettera C).

NEGATIVO:

Solo una banda verde appare nella zona di controllo segnata in figura con la lettera C (linea di controllo).

NON VALIDO:

Totale assenza della banda di controllo verde indipendentemente dalla presenza di bande rosse; il volume di campione insufficiente, la procedura non corretta o un deterioramento dei reagenti sono le cause più probabili della mancata comparsa della banda di controllo. Rivedere la procedura e ripetere il test con una nuova card. Se il problema persiste, non utilizzare il kit e contattare il distributore locale.

L'intensità della banda di colore rosso nella zona del risultato varia a seconda della concentrazione di antigeni presenti nel campione. Tuttavia, né un valore quantitativo né l'incremento di antigeni può essere determinato con questo test qualitativo.

Illustrazione 3



IX. CARATTERISTICHE DEL TEST

A) Valori attesi

I Norovirus sono riconosciuti come la causa più comune di gastroenterite virale tra gli adulti negli Stati Uniti. Si stima che oltre il 40% delle epidemie di gastroenterite di origine alimentare sono attribuibili a Norovirus. Questi virus altamente contagiosi possono essere trasmessi da alimenti contaminati, acqua, o il contatto diretto da persona a persona. Focolai di Norovirus sono stati documentati sulle navi da crociera, in asili e scuole, e tra i membri dell'esercito. La malattia grave è rara, ma complicanze inusuali possono verificarsi negli anziani, nei bambini e nei soggetti immunocompromessi.

B) Sensibilità e specificità

Alcuni campioni di feci di pazienti di differenti ospedali Europei sono stati testati. Il Norovirus GI-GII Card (Mascia Brunelli) è stato confrontato con altri test immunocromatografici ed i risultati sono stati confermati da una tecnica di PCR: Sensibilità: > 99% di sensibilità per Norovirus GI e GII Specificità: > 99% di specificità per Norovirus GI e GII.

C) Reazione crociata

Una valutazione per determinare la reattività crociata del Norovirus GI-GII Card (Mascia Brunelli) è stata eseguita. Non c'era alcuna reattività crociata con microrganismi gastrointestinali comuni occasionalmente presenti nelle feci: *Adenovirus*, *Astrovirus*, *Enterovirus*, *Rotavirus*, *Salmonella*, *Shigella*.

X. CONTROLLO QUALITÀ INTERNO

Viene inclusa la procedura di Controllo Qualità interno. Una linea verde compare nella regione controllo C come conferma che il volume del campione è sufficiente e la tecnica procedurale corretta.

XI. LIMITI DEL TEST

- Norovirus GI-GII Card (Mascia Brunelli) indica unicamente la presenza di antigeni di *Norovirus* GI e GII nel campione (analisi qualitativa) e deve essere utilizzato per la determinazione del *Norovirus* GI and GII in soli campioni di feci. Con questo test non si possono rilevare valori quantitativi o aumento della concentrazione
- Un eccesso di campione può causare risultati errati (banda marrone). Diluire il campione con il tampone e ripetere il test. Alcuni campioni di feci possono diminuire l'intensità della linea di controllo
- La prova deve essere effettuata il più presto possibile dopo l'apertura della busta sigillata
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire approfondimenti. Un risultato negativo non esclude comunque la possibilità di infezione da Norovirus.
- Questo test fornisce una diagnosi presuntiva di infezione causata da Norovirus. Tutti i risultati devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici e di laboratorio a disposizione del medico
- Dopo una settimana dall'infezione, il numero di parassiti nelle feci diminuisce, rendendo il campione meno reattivo. I campioni di feci devono essere raccolti entro una settimana dalla comparsa dei sintomi

XII. BIBLIOGRAFIA

- KISSMANN J., et al. "Physical stabilization of Norwalk Virus-like Particles". *Journal of Pharmaceutical Sciences*, VOL.97, NO. 10, OCTOBER 2008.
- LOBUEA A., ET AL. "Multivalent Norovirus vaccines induce strong mucosal and systemic blocking antibodies against multiple strains". *Vaccine* 24 (2006) 5220-5234.

IVD	Dispositivo medico-diagnostico in vitro	Limiti di temperatura	LOT	Codice del lotto (EXXX)	Fabbricante	Mantenere asciutto	Non sterile
Consultare le istruzioni per l'uso	Utilizzare entro (anno/mese)	REF	Numero di catalogo	Non riutilizzare	Fragile, maneggiare con cura	Tenere lontano dal calore	

CONTENUTO

Norovirus Card
Liq.Extr tubi
Istruzioni per l'uso

Ref. VC1027(25 test)

25 test
25 x 1.0 mL
1 pezzo

Codice Ramo CND W0105040616