

Norovirus Schnelltest NORO-K10

Nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik.

Ein Schnelltest zum qualitativen Nachweis von Noroviren in menschlichen Stuhlproben. Nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik.

» VERWENDUNGSZWECK

Der Norovirus Schnelltest (Kassette) ist ein schneller chromatographischer Immunoassay für den qualitativen Nachweis von Noroviren in menschlichen Stuhlproben und ist ein Hilfsmittel in der Diagnose Norovirusinfektionen.

» ZUSAMMENFASSUNG

Noroviren (Nov) sind eine genetisch heterogene Gruppe von Einzelstrang-RNA Viren ohne Hülle, die zu der Familie der Caliciviridae zählen. Man hat sie jahrzehntlang als "small round structured Viren" (SRSV) oder „Norwalk-like-Viren“ bezeichnet, bis ihre Taxonomie kürzlich mit modernen molekularen Methoden untersucht wurde. Zunächst wurden vier Antigentypen des SRSV anerkannt, aber in jüngerer Zeit hat man drei Genogruppen mit der Gattung Norovirus identifiziert. Genogruppe 1 und Genogruppe 2 sind mit Infektionen beim Menschen assoziiert, während Genogruppe 3 mit Rinder- und Schweine-Infektionen einhergeht. Noroviren sind eine der Hauptursachen von akuter Gastroenteritis weltweit, die oft explosive Ausbrüche in Gemeinschaftseinrichtungen verursacht. Noroviren sind hoch ansteckend und mit einem Inokulum von lediglich zehn Viruspartikeln in der Lage, eine Infektion zu verursachen. Die Verbreitung erfolgt durch kontaminierte Lebensmittel und Wasser sowie durch Mensch-zu-Mensch-Übertragung. Die Übertragung erfolgt vorwiegend fäkal-oral, kann jedoch auch in Form von Luft aufgrund aerosolisiertem Erbrochenem erfolgen, welches in der Regel reichlich infektiöse Viruspartikel enthält. Ausbrüche können über mehrere Übertragungswege erfolgen. Die Krankheit ist akut, aber in der Regel mild, obwohl es auch schon zu Todesopfern unter den gebrechlichen älteren Menschen gekommen ist. Sie ist selbstlimitierend und folgt einer Inkubationszeit von 24-48 Stunden, es kann jedoch vorkommen, dass die Symptome bereits innerhalb von 12 Stunden nach der ersten Exposition auftreten. Die durch Noroviren verursachten Ausbrüche in Gemeinschaftseinrichtungen sind zu einem ersten Problem der öffentlichen Gesundheit geworden. Ausbrüche von Norovirusinfektionen können mit Restaurants und Gemeinschaftseinrichtungen wie Pflegeheimen, Krankenhäusern und Elite-Sportcamps in Verbindung gebracht werden. Infektionen können bei Säuglingen, älteren oder gebrechliche Patienten tödlich enden, wenn sie unbehandelt bleiben. Die Symptome der Krankheit schließen gewöhnlich Brechreiz, Erbrechen, Durchfall, und Magenkrämpfe ein. Manchmal haben Leute zusätzlich leichtes Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Muskelschmerzen und ein allgemeines Gefühl der Müdigkeit. Die Krankheit beginnt oft plötzlich und die infizierte Person kann sich sehr krank fühlen. Bei den meisten Menschen ist die Krankheit selbstlimitierend mit Symptomen, die etwa 1 bis 2 Tage andauern. In der Regel geht die Krankheit bei Kindern mit mehr Erbrechen einher als bei Erwachsenen. Die Nachweisgrenze liegt bei 1×10^7 KBE / ml.

» PRINZIP

Der Norovirus Schnelltest ist ein qualitativer, Lateralfuss-Immunoassay zum Nachweis von Norovirus in menschlichen Stuhlproben. Der Norovirus Schnelltest nutzt Genogruppe 1 und Genogruppe 2 spezifische monoklonale Antikörper, die auf der Testmembran aufgetragen sind. Während des Tests reagiert die Stuhlprobe mit den konjugierten Antikörpern. Das Gemisch wandert chromatographisch, durch Kapillarkräfte nach oben auf die Membran und reagiert mit den Genogruppe 1 und 2 Antikörpern auf der Membran. So wird eine farbige Linie in der Testlinienregion T1 oder T2 erzeugt. Das Vorhandensein einer farbigen Linie in Testlinienregion T1 zeigt ein positives Ergebnis für Genogruppe 1 und in Testlinienregion T2 für Genogruppe 2 an, während das Fehlen dieser Linien ein negatives Ergebnis anzeigt. Als Verfahrenskontrolle dient die farbige Linie, die immer in der Kontrolllinienregion (C) erscheinen muss. Die Kontrolllinie zeigt an, dass eine ausreichende Probenmenge verwendet wurde und dass eine Membrandurchfeuchtung vollständig stattgefunden hat.

» REAGENZIEN

Der Test enthält mit monoklonalen Genogruppe 1 und Genogruppe 2 Antikörpern beschichtete Partikel sowie auf die Membran aufgetragene monoklonale Genogruppe 1 und Genogruppe 2 Antikörper.

» VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur für den professionellen in-vitro-diagnostischen Gebrauch! Nicht nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums verwenden.
- Der Test muss bis zum Gebrauch im versiegelten Beutel verbleiben.
- In den Bereichen, in denen mit Probenmaterial oder Tests gearbeitet wird, sind Essen, Trinken oder Rauchen untersagt.
- Nicht benutzen, wenn der Folienbeutel Beschädigungen aufweist.
- Alles Probenmaterial von Patienten ist als potentiell infektiös zu behandeln. Beachten Sie bitte während des gesamten Tests alle bewährten Vorsichtsmaßnahmen zum Umgang mit biologisch gefährlichen Materialien, und befolgen Sie die Standardverfahren zur ordnungsgemäßen Entsorgung von Probenmaterial. Beim Testen von Probenmaterial Schutzkleidung wie Laborkittel, Einweghandschuhe und Augenschutz tragen
- Der gebrauchte Test sollte sachgemäß entsprechend der Vorschriften entsorgt werden.
- Feuchtigkeit und Temperatur können Ergebnisse negativ beeinträchtigen.

» LAGERUNG UND HALTBARKEIT

Lagern Sie den Test wie verpackt im versiegelten Beutel gekühlt oder bei Raumtemperatur. (2–30°C). So bleibt der Test bis zu dem auf dem versiegelten Beutel aufgedruckten Haltbarkeitsdatum stabil. Der Test muss bis zum Gebrauch im versiegelten Beutel mit dem Trocknungsmittel verbleiben. NICHT EINFRIEREN. Nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr verwenden.

» PROBENGEWINNUNG UND VORBEREITUNG

- Die virale Bestimmung wird durch die Probensammlung zu Beginn der Symptomatik verbessert. Es wurde beschrieben, dass die maximale Exkretion von Noroviren im Stuhl bei Patienten mit einer Gastroenteritis nach etwa 3-13 Tage nach dem Auftreten der ersten Symptome zu beobachten ist. Wenn die Proben lange nach dem Einsetzen der Durchfallsymptome genommen werden, kann die Menge an Antigen möglicherweise nicht mehr ausreichend sein, um ein positives Ergebnis zu erhalten oder die detektierten Antigene sind möglicherweise nicht mit der vorherigen Durchfallperiode in Einklang zu bringen.
- **Die Stuhlproben müssen in einem sauberen, trockenen und wasserdichten Probensammelbehälter gesammelt werden, der weder Detergenzien, noch Konservierungsmittel oder Transportmedium enthält.**
- Vor der Testanwendung müssen alle notwendigen Materialien auf Raumtemperatur gebracht werden.

» MATERIAL

MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- Testkassette
- Gebrauchsanweisung
- Probenröhrchen mit Extraktionspuffer (Konservierungsmittel ProClin300)
- Stuhlfänger aus Papier

ERFORDERLICHE ABER NICHT MITGELIEFERTER MATERIALIEN

- Probensammelbehälter
- Stoppuhr
- Zentrifuge und Pipette um 80 µL zu dosieren falls notwendig

» TESTDURCHFÜHRUNG

Vor Testbeginn den Norovirus Test und Puffer, Probe, und/oder Kontrollen auf Raumtemperatur (15 – 30°C) bringen.

1. Zum Sammeln von Stuhlproben:

Um genug Viruspartikel zu erhalten, sammeln Sie eine ausreichend große Stuhlprobe (1-2 g bzw. ml für eine flüssige Probe) in einem sauberen und trockenen Probensammelbehälter. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn die Stuhlprobe innerhalb von 6 Stunden nach Probennahme getestet wird. Gesammelte Proben, die nicht innerhalb dieser 6 Stunden getestet werden, können für maximal 3 Tage bei 2-8°C gelagert werden. Für eine längere Lagerung muss die Probe bei -20°C eingefroren werden.

2. Verarbeitung der Stuhlproben:

• Für feste Proben:

Drehen Sie den Deckel des Probenentnahmeröhrchens auf und stechen Sie mit dem Sammelstab nach dem Zufallsprinzip an mindestens 3 verschiedenen Stellen in die Stuhlprobe im Probensammelbehälter, um etwa 50 mg Stuhl (entsprechend 1/4 Erbse) zu sammeln. Die Stuhlprobe nicht aus dem Probensammelbehälter abschöpfen. (Abb. a)

• Für wässrige Proben:

Halten Sie die Pipette (nicht im Lieferumfang enthalten) senkrecht und saugen Sie die Stuhlprobe auf, überführen Sie anschließend 50 µl in das Probenröhrchen mit dem Extraktionspuffer (Abb. b)

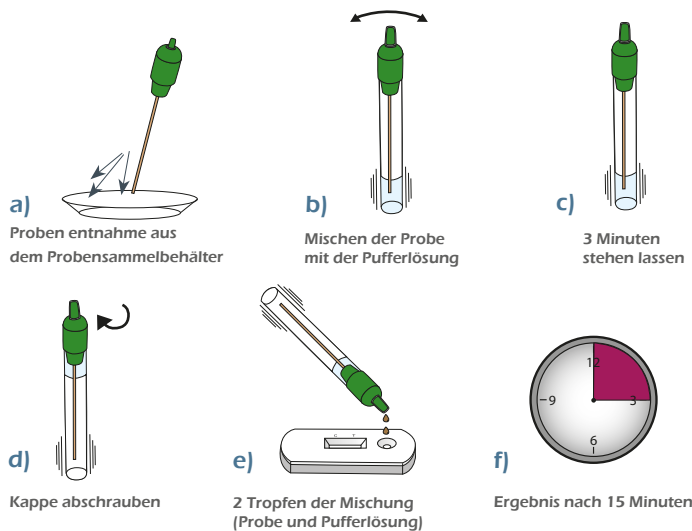
- Verschließen Sie den Deckel des Probenröhrchens fest und schütteln Sie das Probenröhrchen ausgiebig, um Probe und Extraktionspuffer gut zu vermischen. Lassen Sie das Probenentnahmeröhrchen anschließend für 3 Minuten stehen. (Abb. c)

3. Beutel vor Testbeginn auf Raumtemperatur (15 – 30°C) bringen. Nehmen Sie die Testkassette aus dem versiegelten Beutel und benutzen Sie den test so schnell wie möglich. Die besten Ergebnisse werden erzielt, wenn der Test sofort nach dem Öffnen des Folienbeutels durchgeführt wird.

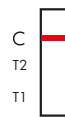
4. Halten Sie das Probenröhrchen aufrecht und schrauben Sie die kleine Kappe des Probenröhrchens ab. (Abb. d) Drehen Sie das Probenröhrchen mit der Öffnung nach unten in Richtung Probenöffnung und applizieren Sie 2 volle Tropfen der extrahierten Probe (etwa 80 µl) in das Probenfeld (S) der Testkassette, (Abb. e) starten Sie die Stoppuhr. Bildung von Luftblasen in der Probenöffnung (S) vermeiden. Siehe Abbildung.

5. Lesen Sie das Ergebnis nach 15 Minuten ab. (Abb. f) Nach mehr als 20 Minuten sollten keine Ergebnisse mehr abgelesen werden

Hinweis: Sollte die Probe nicht einziehen (Vorhandensein von Partikeln) zentrifugieren Sie die im Extraktionspuffer verdünnte Probe. Entnehmen Sie anschließend 80 µl des Überstands und geben Sie diesen in das Probenfeld (S). Starten Sie den Timer und fahren Sie mit Schritt 5 in der oben aufgeführten Testdurchführung fort.

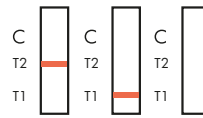


NEGATIV



Eine farbige Linie erscheint in der Kontrolllinienregion (C). In der Testlinienregion (T) erscheint keine Linie.

UNGÜLTIG



Die Kontrolllinie (C) wird nicht ausgebildet. Unzureichendes Probenvolumen oder inkorrekte Verfahrenstechniken sind die wahrscheinlichsten Gründe für das Ausbleiben der Kontrolllinie. Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und führen Sie den Test mit einem neuen Test durch. Falls das Problem weiterbesteht, die Charge ab sofort nicht weiterverwenden und sich mit dem örtlichen Vertriebshändler oder Hersteller in Verbindung setzen.

» QUALITÄTSKONTROLLE

Der Test beinhaltet eine Verfahrenskontrolle. Eine in der Kontrolllinienregion (C) erscheinende rote Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, entsprechende Membrandurchfeuchtung und korrekte Durchführung. Kontrollstandards sind nicht in dem Kit enthalten. Kontrollstandards werden nicht mit dieser Testpackung geliefert, es wird empfohlen, dass positive und negative Kontrollen als im Labor anerkannte Testpraxis (GLP) getestet werden, um das Testverfahren und einwandfreie Testeigenschaft zu bestätigen.

» EINSCHRÄNKUNGEN

1. Der Test sollte ausschließlich zum Nachweis von Norovirusantigenen in humanen Stuhlproben verwendet werden
2. Der Norovirus Schnelltest zeigt lediglich das Vorhandensein von Norovirusantigenen in der Probe an und sollte nicht als einziges Kriterium für die Diagnose von Norovirusinfektionen verwendet werden.
3. Stuhlproben von Kleinkindern unter einem Jahr können falsch-positive Ergebnisse hervorrufen
4. Wie bei allen diagnostischen Verfahren dürfen die mit diesem Test erzielten Ergebnisse nur in Verbindung mit anderen, dem Arzt zur Verfügung stehenden Informationen genutzt werden
5. Sollte das Testergebnis negativ sein, die klinischen Symptome jedoch anhalten/ für eine Infektion sprechen, sind weitere aufbauende Tests oder andere klinische Methoden anzuraten. Ein negatives Ergebnis schließt zu keiner Zeit die Möglichkeit einer Norovirusinfektion aus.

» ERWARTUNGSWERTE

Der Norovirus Schnelltest wurde mit der RT-PCR Methode verglichen und zeigte eine Gesamtrichtigkeit von über 93 %.

» TESTEIGENSCHAFTEN

Klinische Sensitivität, Spezifität und Richtigkeit

Die Leistung der Norovirus Schnelltest wurde unter der Verwendung 70 klinischer Proben, gesammelt von Kindern und jungen Erwachsenen, mit der RT-PCR Methode verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Gesamtrichtigkeit der Norovirus Genogruppe 1 95,1% und die Gesamtrichtigkeit der Norovirus Genogruppe 2 93,1% beträgt.

Norovirus Schnelltest Kassette vs. RT-PCR

Genogruppe 1

Methode	Ergebnis	RT-PCR		Gesamtergebnis
		+	-	
Norovirus Schnelltest	+	29	1	30
	-	1	10	11
	Gesamtergebnis	30	11	41

Relative Sensitivität: 96,7% (95%CI: *82,8%-99,9%)

Relative Spezifität: 90,9% (95%CI: *58,7%-99,8%)

Relative Richtigkeit: 95,1% (95%CI: *83,5%-99,4%) *Konfidenzintervall

Genogruppe 2

Methode	Ergebnis	RT-PCR		Gesamtergebnis
		+	-	
Norovirus Schnelltest	+	15	1	16
	-	1	12	13
	Gesamtergebnis	16	13	29

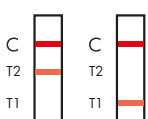
Relative Sensitivität: 93,8% (95%CI: *69,8%-99,8%)

Relative Spezifität: 92,3% (95%CI: *64,0%-99,8%)

Relative Richtigkeit: 93,1% (95%CI: *77,2%-99,2%) *Konfidenzintervall

» INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

POSITIV



T2 POSITIV: Zwei unabhängige farbige Linie erscheinen. Es muss eine farbige Linie in der Kontrolllinienregion (C) und eine farbige Linie in der Genogruppe 2 Testlinienregion (T2) erscheinen.

T1 POSITIV: Zwei unabhängige farbige Linie erscheinen. Es muss eine farbige Linie in der Kontrolllinienregion (C) und eine farbige Linie in der Genogruppe 1 Testlinienregion (T1) erscheinen.

Hinweis: Der Farbton der Linie in der Testlinienregion (T) variiert in Abhängigkeit der in der Probe vorhandenen Norovirusantigenkonzentration. Daher sollte jeglicher Schatten in der T-Linien Region als positiv gewertet werden.

Präzision

Intra-Assay

Die Intra-Assay Präzision wurde geprüft indem 10 Replikate der folgenden 4 Proben verwendet wurden: negativ, schwach positiv, medium positiv und hochgradig positiv. Die Proben wurden in der Auswertungszeit zu >99% korrekt identifiziert

Inter-Assay

Die Inter-Assay Präzision wurde in je 10 unabhängigen Testen mit den folgenden 4 gleichen Proben geprüft: negativ, schwach positiv, medium positiv und hochgradig positiv. Die Proben wurden in der Auswertungszeit zu >99% korrekt identifiziert

Kreuzreaktionen

Kreuzreaktionen mit den folgenden Organismen wurde bei Konzentrationen von 1×10^9 Organismen/ml untersucht. Die folgenden Organismen zeigten ein negatives Ergebnis mit der Norovirus Schnelltest.











Staphylococcus aureus
Acinetobacter spp
Group B Streptococcus
Enterococcus faecalis
Gardnerella vaginalis
Enterococcus faecium
Klebsiella pneumoniae
E.coli
Candida albicans
Hemophilus influenzae

Neisseria gonorrhoea
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella choleraesuis
Proteus vulgaris
Group C Streptococcus
Acinetobacter calcoaceticus
Proteus mirabilis
Branhamella catarrhalis
Chlamydia trachomatis
Neisseria meningitidis

» LITERATUR

1. Shiota, T., Okame, M., Takanashi, S., Khamrin, P., Takagi, M., Satou, K., Masuoka, Y., Yagyu, F., Shimizu, Y., Kohno, H., Mizuguchi, M., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Characterization of a Broadly Reactive Monoclonal Antibody against Norovirus Genogroups I and II: Recognition of a Novel Conformational Epitope. *J. Virol.* 81: 12298-12306
2. Nguyen, T. A., Khamrin, P., Takanashi, S., Le Hoang, P., Pham, L. D., Hoang, K. T., Satou, K., Masuoka, Y., Okitsu, S., Ushijima, H. (2007). Evaluation of Immunochromatography Tests for Detection of Rotavirus and Norovirus among Vietnamese Children with Acute Gastroenteritis and the Emergence of a Novel Norovirus GII.4 Variant. *J Trop Pediatr* 53: 264-269
3. M Okame, T Shiota, G Hansman, M Takagi, F Yagyu, S Takanashi, TG Phan, Y Shimizu, H Kohno, S Okitsu, H Ushijima (2007). Anti-norovirus polyclonal antibody and its potential for development of an antigen-ELISA. *J Med Virol* (2007) 79: 1180-6.
4. Tracy Dewese Parker & al., Identification of genogroup I and genogroup II broadly reactive epitopes on the norovirus capsid, *Journal of Virology*, June 2005: 7402-7409.

» SYMBOLE

	 Inhalt ausreichend für <n> Teste
 Nur für in-Vitro-diagnostische Zwecke	 Chargenbezeichnung
 Nur einmal verwenden	 Verwendbar bis
 Gebrauchsanweisung beachten	 Lagertemperatur 2-30 °C
 Trocken aufbewahren	 Bestellnummer

Rev.: 29.01.2016 (JM)

» HERSTELLER



Diagnostik Nord GmbH
Mecklenburgstraße 97
19053 Schwerin
Germany

Telefon: +49 (0) 385 208 409-0
Telefax: +49 (0) 385 208 409-29
E-Mail: info@diagnostik-nord.de
Internet: www.diagnostik-nord.de