

IDEIA™ Norovirus



An enzyme immunoassay for the detection of Norovirus in human faecal specimens.

Test immunoenzymatique pour la détection des Norovirus dans les fèces humaines.

Enzymimmunoassay zum Nachweis von Norovirus in humanen Fäkalproben.

IDEIA™

1 INTENDED USE

The IDEIA™ Norovirus test is a qualitative enzyme immunoassay for the detection of genogroup 1 and genogroup 2 Norovirus in human faeces.

2 SUMMARY

Norovirus, initially known as small round structured viruses^{1,2} (SRSV), are single stranded RNA viruses classified in the family Caliciviridae³.

Initially four antigenic types of SRSV were recognised⁴ but more recently, using molecular techniques, three genogroups have been identified within the genus Norovirus⁵. Genogroup 1 and Genogroup 2 are associated with human infections whilst Genogroup 3 is associated with bovine and porcine infection⁶.

Noroviruses are a major cause of viral gastroenteritis with high attack rates in children and adults^{7,8}. Large outbreaks can occur in hospitals⁹, cruise ships¹⁰, schools¹¹, and residential homes¹². Several outbreaks have arisen from the ingestion of contaminated water and food, especially shell fish. Outbreaks particularly of Norovirus associated with Winter Vomiting Disease can occur in the winter months in the western hemisphere but sporadic cases, and community and food borne outbreaks can occur throughout the year¹³.

Outbreaks of Norovirus are reported to be more common than bacterial gastroenteritis¹⁴ and can have a significant public health impact. Infections in infants, elderly patients and immunocompromised patients can give rise to severe dehydration. Outbreaks in hospitals can prolong hospitalisation and treatment of infected children.

The laboratory diagnosis of Norovirus infection plays an important role in patient and public health management and provides a differential diagnosis from other causes of gastroenteritis. At present Norovirus do not grow readily in cell culture systems and cannot be isolated from clinical specimens. Electron Microscopy has traditionally been used as an aid to diagnosis but is mainly confined to reference centres because of the high expertise and expense required. More recently a range of in-house molecular amplification methods have been described¹⁵ but these methods are not well standardised and performance is influenced by inhibitors present in specimens and by the primer sets used. In addition these tests are not convenient or cost effective for routine testing.

Recently genogroup and genotype specific antibodies^{16,17} have been generated and shown to be applicable for use in rapid enzyme immunoassays¹⁸. The IDEIA™ Norovirus test utilises genogroup 1 and genogroup 2 specific monoclonal and polyclonal antibodies in a solid phase immunoassay for the rapid detection of Norovirus genotypes.










3 PRINCIPLE OF THE TEST

The IDEIA™ Norovirus test utilises a combination of both genogroup 1 and genogroup 2 specific monoclonal and polyclonal antibodies in a solid-phase sandwich enzyme immunoassay to detect genogroup 1 and genogroup 2 Norovirus. Microwells are coated with a mixture of genogroup 1 and genogroup 2 Norovirus specific monoclonal antibodies. Faecal suspension or control specimen is added to the microwell and incubated simultaneously with a mixture of Norovirus specific genogroup 1 and genogroup 2 polyclonal and monoclonal antibodies conjugated to horseradish peroxidase.



Norovirus antigen present in the specimen is captured between antibodies on the solid phase and the enzyme conjugated antibodies. After 60 minutes incubation at room temperature, the microwells are washed with working strength wash buffer to remove excess specimen and any unbound enzyme labelled antibodies. A chromogen is added to the microwells and incubated for 30 minutes at room temperature. The presence of specifically bound enzyme labelled antibodies in the microwells results in a colour change which is stopped by the addition of acid. Colour intensity significantly above background levels is indicative of the presence of Norovirus antigen in the specimen or control. The IDEIA™ Norovirus test will detect both genogroup 1 and genogroup 2 strains, but will not differentiate between them.

4 DEFINITIONS


The following symbols have been used throughout the product information.

	Product code and catalogue number
	Consult the instructions for use
	Contains sufficient for 'N' tests
	Manufactured by
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Use by
	Batch Code
	Storage temperature limitations
	Add water

5 REAGENTS PROVIDED

 96 - Each kit contains sufficient materials for 96 direct specimens.  - The shelf life of the kit is as indicated on the outer box label.

5.1 IDEIA™ NOROVIRUS CONTENTS

	One Instructions for Use Booklet.
MICROTITRATION PLATE	1 x 96 well Microtitration Plate of 12, 8 microwell break-apart strips coated with a mixture of Norovirus genogroup 1 and 2 specific monoclonal antibodies. The plate is presented in a resealable foil pouch containing a desiccant card for subsequent storage of unused microwells.
One bottle of each of the following unless indicated otherwise:	
SAMPLE DILUENT	110mL Sample Diluent. Tris buffered saline containing antimicrobial agent and red dye.
CONTROL +	4 x Lyophilized Positive Control: of baculovirus expressed viral-like particles of Norovirus.

CONJUGATE	13mL Conjugate: peroxidase labelled polyclonal antibodies (rabbit) and monoclonal antibodies (mouse) – against Norovirus genogroup 1 and 2 in a buffered protein solution containing antimicrobial agent and blue dye.
CONTROL DILUENT	10mL Control Diluent: phosphate buffered saline containing antimicrobial agents and green dye.
WASH BUFFER (x25)	2 x 50mL Wash Buffer Concentrate (x25): tris buffered solution containing detergent and antimicrobial agent.
SUBSTRATE TMB	13mL Substrate: stabilized peroxide 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine (TMB) in a dilute buffer solution. TMB has been reported to be non-carcinogenic. However, personal protective equipment is recommended to avoid direct exposure.
STOP SOLUTION	12mL Stop Solution: 0.46mol/L sulphuric acid.

5.2 PREPARATION, STORAGE AND RE-USE OF KIT COMPONENTS

The IDEIA™ Norovirus kit format allows for testing of up to 96 specimens. In order to ensure optimal kit performance it is important that unused kit components are stored according to the following instructions:

5.2.1 Antibody Coated Microwells - **MICROTITRATION PLATE**

Open the plate pouch by cutting along the seal. Break off the required number of microwells and relocate them into the frame. Return all unused microwells and strips to the resealable pouch with the desiccant card. Carefully reseal the pouch and store at 2-8°C. Microwells may be used for up to 12 weeks after initial opening, provided they are stored in this manner.

5.2.2 Sample Diluent - **SAMPLE DILUENT**

Ready to use. Store unused Sample Diluent at 2-8°C.

NOTE: Sample Diluent is required for use as a negative control and sufficient should be retained for use with each batch of specimens tested. When used as negative control sample diluent should be aliquoted into a vial identical to those used for preparation of specimen dilutions, to ensure that vials contain no interfering substances.

5.2.3 Positive Control - **CONTROL**

Reconstitute the required number of the lyophilised Positive Control with 1mL of Control Diluent. Mix the contents by inversion. Store unused positive control at 2-8°C and use within 1 month. For long term storage, store at -20°C in appropriate aliquots.

5.2.4 Conjugate - **CONJUGATE**

Ready to use. Store unused Conjugate at 2-8°C.

5.2.5 Control Diluent - **CONTROL DILUENT**

Ready to use. Store unused Control Diluent at 2-8°C.

5.2.6 Wash Buffer - [WASH BUFFER (X25)]

Provided x25 concentrate. Prepare working strength Wash Buffer by adding 1 part of Wash Buffer concentrate to 24 parts of fresh deionised or distilled water. **Prepare working strength Wash Buffer on the day of use.** Store unused concentrate at 2-8°C.

Do not store unused working strength Wash Buffer for subsequent use (see section 8.2.10).

5.2.7 Substrate - [SUBSTRATE TMB]

Ready to use. Store unused Substrate at 2-8°C, protect from light.

5.2.8 Stop Solution - [STOP SOLUTION]

Ready to use. Store unused Stop Solution at 2-8°C.

6 ADDITIONAL REAGENTS

6.1 REAGENTS

Fresh deionised or distilled water for preparation of working strength Wash Buffer.

6.2 ACCESSORIES

The following products are intended for use in conjunction with IDEIA™ Norovirus. Contact your local Oxoid subsidiary or distributor for further information.

IDEIA™ Gastroenteritis Sample Diluent 110mL (Code No. S6061).

IDEIA™ Gastroenteritis Wash Buffer Concentrate 50mL (Code No. S6126).

7 EQUIPMENT

The following equipment is required:

Containers suitable for the collection of faecal specimens.

Clean screw-capped disposable containers (minimum 3mL capacity) for preparation of faecal suspensions.

Clean vial for Negative Control.

Clean absorbent paper (onto which microwells can be tapped dry).

Precision micropipettes and disposable tips to deliver 100µL and 1000µL volumes (optional).

Waste discard container with suitable fresh disinfectant.

Automated plate washer (optional) or suitable equipment for washing 8 microwell strips (section 10.2.4).


NOTE: if washing less than 8 test microwells in a strip using an automated washer with an 8 microwell head, it is important to completely fill the strips with blank microwells.

Spectrophotometer or EIA plate reader able to read a 96 microwell plate of 8 microwell strips at an absorbance of 450nm with a reference at 620-650nm. (Optional, Section 10.3, Reading the Test Results).

Microplate mixer.

Application Notes for use on open automated systems are available for this assay. Contact your local Oxoid subsidiary or distributor.

8 PRECAUTIONS

 - For *in vitro* diagnostic use. Anyone performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.

8.1 SAFETY PRECAUTIONS

8.1.1 Stop Solution contains sulphuric acid (0.46mol/L). Avoid contact with skin and mucous membranes. If stop solution comes into contact with these sites wash immediately with water.

8.1.2 Do not eat, drink, smoke, store or prepare foods, or apply cosmetics within the designated work area.

8.1.3 Do not pipette materials by mouth.

8.1.4 Wear disposable gloves when handling clinical specimens and reagents. Always wash hands after working with potentially infectious material.

8.1.5 Specimens, positive controls and all materials coming into contact with them should be handled and disposed of as though potentially infectious.

8.1.6 Dispose of all clinical specimens in accordance with local legislation.

8.1.7 IDEIA™ Norovirus reagents contain a proprietary anti-microbial agent which presents no hazard to the user if normal laboratory safety precautions are followed.

8.1.8 Safety data sheet available for professional user on request.

8.2 TECHNICAL PRECAUTIONS

8.2.1 Components must not be used after the expiry date printed on the labels. Do not mix or interchange different batches/lots of reagents.

8.2.2 The reagents are provided at fixed concentrations. Test performance will be affected if the reagents are modified or stored under conditions other than those detailed in Section 5.2.

8.2.3 Avoid contamination of reagents.

- 8.2.4** Use separate disposable pipettes or pipette tips for each specimen, control or reagent in order to avoid cross-contamination of either specimen or controls which could cause erroneous results.
- 8.2.5** When adding specimens or enzyme labelled antibody to the microwells, avoid allowing the pipette tip from coming into contact with microwell walls.
- 8.2.6** Avoid contamination with metal ions and oxidising agents.
- 8.2.7** Do not use substrate showing a blue colour prior to its addition to the microwells.
- 8.2.8** Protect substrate from light.
- 8.2.9** Microwells cannot be re-used.
- 8.2.10** Do not store unused working strength Wash Buffer for subsequent use. When not in use wash buffer reservoirs should be rinsed in deionised or distilled water and left to dry.
- 8.2.11** Manual or automated washing equipment must be free of microbial contamination, be correctly calibrated and maintained according to the manufacturer's instructions.

9 COLLECTION AND PREPARATION OF SPECIMENS

9.1 SPECIMEN COLLECTION

Faecal specimens should be collected as soon as possible following the onset of symptoms.

Peak excretion of Norovirus in faeces from patients with gastroenteritis is reported to occur between 25-72 hours after the onset of symptoms.

Faecal specimens for direct testing should be collected into containers that do not contain media, preservatives, animal sera, metal ions, oxidising agents or detergents, as all of these additives may interfere with the IDEIA™ Norovirus test.

Specimens may be stored for 3 days at 2-8°C prior to testing. For long-term storage of faecal specimens, store at -20°C.

9.2 PREPARATION OF FAECAL SPECIMENS

Add 1mL of Sample Diluent to a suitable labelled container and use to prepare a 10% suspension or dilution of faecal specimen by addition of approximately 0.1g of solid faeces (small pea-sized portion) or approximately 100µL of liquid faeces. Mix thoroughly and leave to settle for 10 minutes prior to testing.

Alternatively, after preparation of samples centrifuge the suspension for 5 minutes at ≥5000 rpm.

Specimens suspended/diluted in IDEIA™ Norovirus Sample Diluent may be stored at 2-8°C for up to 3 days prior to testing.

NOTE: Faecal specimens prepared in Amplified IDEIA™ Astrovirus, IDEIA™ Rotavirus and IDEIA™ Adenovirus Sample Diluent can also be tested in the IDEIA™ Norovirus test. Alternative sample diluents have not been validated for use.

10 TEST PROCEDURE

PLEASE REFER TO SECTION 8.2, TECHNICAL PRECAUTIONS, BEFORE PERFORMING TEST PROCEDURE.

Reagents and specimens should be brought to room temperature (15-30°C) before use.

10.1 PREPARATION OF CONTROLS

Negative Control

Add 1mL of Sample Diluent to a vial identical to those used for specimen dilution.

Positive Control

The Positive Control must be reconstituted with 1mL of Control Diluent and mixed before use (see Section 5.2.3).

At least one IDEIA™ Norovirus Positive and Negative Control must be included with each batch of specimens tested (see Section 10.2.1).

10.2 ASSAY PROCEDURE

When using reagent dropper bottles, hold the bottles vertically with the nozzle approximately 5mm above the microwell. Squeeze the bottle gently and ensure that the drops fall freely to the microwells without touching the sides. Avoid contamination of all the dropper bottle nozzles. Specimens, controls and conjugate should be added using a micropipette.

10.2.1 Specimen Addition

Locate the required number of microwells into the microwell holder.

Add 100µL of each diluted faecal specimen/stool supernatant, Negative Control or Positive Control to separate microwells. (At least one Negative Control and one Positive Control should be included in each batch of tests.)

Avoid disturbing or sampling any sediment in the sample vial. When dispensing specimens, hold the transfer pipette vertically with the tip immediately above the microwell and ensure that the specimen is delivered without touching the sides of the microwell. Take care not to cross-contaminate specimen and control microwells as this may cause erroneous results.

10.2.2 Conjugate Addition

NOTE: If multiple strips of 8 microwells are used it is recommended to use an 8-channel pipette.

After addition of all specimens and controls to the microwells.

Add 100µL of Conjugate to all microwells using a micropipette and mix gently.

10.2.3 First Incubation

Incubate all microwells 20-30°C for **60 ± 5 minutes**.

10.2.4 Washing the Microwells

The microwells should be washed using freshly prepared working strength Wash Buffer (see Section 5.2.6).

The washing technique is critical to the test performance (see Section 8.2.11) and should be carried out so as to ensure complete filling (with a minimum of **350µL** of working strength Wash Buffer) and emptying of the microwells.

Five wash cycles are essential, by either automated or manual washing techniques.

Manual Washing

If washing microwells manually, aspirate or shake out the contents of the microwells and using freshly prepared Wash Buffer, ensure complete filling and emptying of microwells. Between each wash step remove all remaining Wash Buffer by tapping the inverted microwells on to clean absorbent paper. Manual washing efficiency is further ensured if the Wash Buffer is delivered at an angle so as to produce a vortex in the microwells. After the final wash, the plate should be inverted and tapped on absorbent paper to remove the last traces of Wash Buffer.

Automated Washing

Automated washers should be programmed to complete 5 wash cycles. Washers must be correctly calibrated to ensure complete filling and emptying of microwells between each wash. After the final wash, the plate should be inverted and tapped on absorbent paper to remove the last traces of Wash Buffer.

10.2.5 Substrate Addition

Add 2 drops (or 100µL) of Substrate to each microwell.

10.2.6 Second Incubation

Incubate at 20-30°C for **30 minutes**.

Microwells can be **read visually immediately** after the second incubation (see Section 10.3.1).

10.2.7 Stopping the reaction

Add 2 drops (or 100µL) of Stop Solution to each microwell.

Ensure thorough mixing of the microwells before reading the results. The coloured product is stable for up to 30 minutes after addition of stop solution.

10.3 READING THE TEST RESULTS

10.3.1 Visual reading

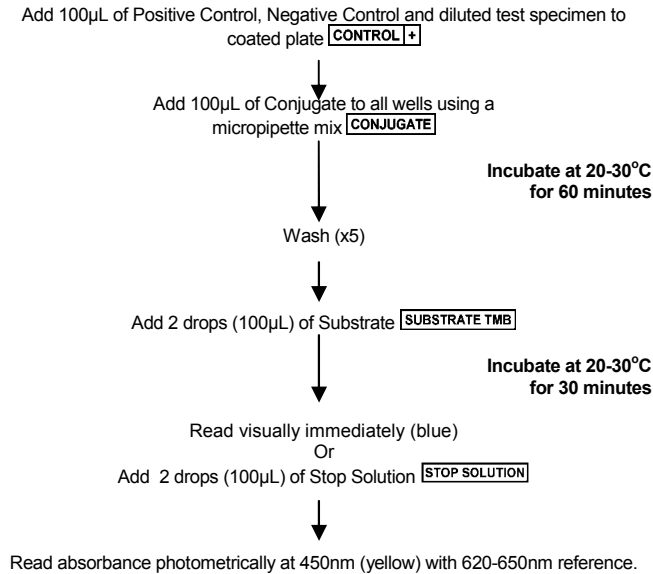
The microwells may be assessed visually immediately after the second incubation. It is recommended that any microwells in which the colour intensity is difficult to interpret when compared to the Negative Control are also read photometrically after addition of Stop Solution (see Section 10.3.2).

10.3.2 Photometric reading

The microwells should be read photometrically within 30 minutes after addition of the Stop Solution. Mix the contents of the microwells and read the absorbance of each microwell using a suitable spectrophotometer or EIA plate reader set at 450nm. Ensure that the bottoms of the microwells are clean before reading and check that no foreign matter is present in the microwells. The reader should be blanked on air (ie with no plate in the carriage) before the plate is scanned.

Alternatively, if the spectrophotometer allows for the use of a reference wavelength (at 620 to 650nm), dual wavelength reading should be performed as this eliminates any potential interference caused by aberrations, such as dirt or marks, on the optical surface of the microwells.

10.4 SUMMARY OF THE IDEIA™ NOROVIRUS ASSAY PROCEDURE



11 INTERPRETATION OF TEST RESULTS

11.1 NEGATIVE CONTROL

As detailed in Section 10.1 (Preparation of Controls), at least one Negative Control must be included in each assay run.

Photometric determination

The Negative Control value, or mean of the Negative Control values, should be less than 0.150 absorbance units.

11.2 CUT-OFF VALUE

Calculation of cut-off value

The cut-off value is calculated by adding 0.10 absorbance units to the negative control value or mean value when more than one Negative Control is included.

Visual determination

The Negative Control microwell should have no visible colour. If this is not the case the test should be read photometrically or repeated.

11.3 POSITIVE CONTROL

As detailed in Section 10.1 (Preparation of Controls), at least one Positive Control must be included in each assay run.

Visual determination

The Positive Control microwell should show a distinct blue colour clearly distinguishable from the Negative Control. If this is not the case test results should not be determined visually. Results should be read photometrically or the test repeated.

Photometric determination

The positive control must have a value of greater than 0.5Au.

11.4 SPECIMENS

11.4.1 Visual determination

Any specimen showing a blue colour more than the Negative Control value should be interpreted as positive, provided that the Negative Control is colourless. Any specimens with no visible colour should be considered negative. If the Negative Control shows any visible blue colour results must be read photometrically after addition of Stopping Solution or the test repeated.

If, after the addition of Substrate, the content of a microwell turns dark blue and forms a blue-black precipitate, the specimen should be interpreted as positive.

11.4.2 Photometric determination

Any specimen with an absorbance value greater than the cut-off value is positive (see Section 11.1). Any specimen with an absorbance value less than the cut-off should be considered negative. A result within 0.010 absorbance unit of the cut-off value should be considered equivocal, and the test repeated or the patient resampled.

12 PERFORMANCE LIMITATIONS

12.1 A negative result does not exclude the possibility of norovirus infection in the patient. Failure to detect norovirus may be a result of factors such as collection of specimen at an improper time in the disease when too few virions are present, improper sampling and/or handling of the specimen.

12.2 IDEIA™ Norovirus test detects genogroup specific viral proteins present in human genotypes of genogroup 1 and genogroup 2 Norovirus. The test cannot be used to differentiate between serotypes of Norovirus.

12.3 The reagents are provided at fixed working concentrations. Test performance will be adversely affected if reagents are modified or stored under conditions other than those detailed in Section 5.2.

12.4 All positive results must be interpreted in conjunction with patient related clinical information. Test results should be interpreted in conjunction with information available from epidemiological studies, clinical assessment of the patient and other diagnostic procedures.

12.5 Meconium samples have not been validated for use with the IDEIA™ Norovirus.

12.6 The IDEIA™ Norovirus test has not been validated with all known strains of Norovirus and therefore failure to detect Norovirus may be due to antigenic diversity in circulating strains.

12.7 A positive result does not preclude the presence of other enteric pathogens. Whilst the relationship between Norovirus and gastroenteritis is well established, concurrent infection with other microbial pathogens is possible. Additional microbiological tests should be performed in parallel with the IDEIA™ Norovirus test in order to exclude other possible causes of illness.

13 EXPECTED VALUES

Positivity rates may vary according to the prevalence of Norovirus in different populations, genotype circulating, geographical location, method of specimen collection, handling, storage, transportation of specimens and the general health environment of the patient population under study.^{7,13}

Noroviruses are a common cause of community outbreaks of gastroenteritis particularly in hospitals or residential homes associated with >40% of outbreaks in the UK^{9,12}.

Noroviruses are frequently associated with cases of winter vomiting disease.

14 SPECIFIC PERFORMANCE CHARACTERISTICS

14.1 CLINICAL STUDIES

The Updated IDEIA™ Norovirus test was evaluated against the previous version of the test (K6043). Studies were conducted on faecal specimens collected from outbreaks of gastroenteritis suspected of being caused by Norovirus from across the UK. All specimens had previously been tested by PCR. Results of the two IDEIA™ Norovirus assays were compared with the known PCR status of the specimens.

14.2 CLINICAL PERFORMANCE

A total of 120 specimens were tested comprising 83 specimens with a positive PCR result for Norovirus and 37 specimens with a negative PCR result for Norovirus.

The updated IDEIA™ Norovirus assay had improved sensitivity and negative predictive value (NPV) relative to PCR, and equivalent specificity and positive predictive value (PPV) relative to PCR when compared with the previous version of the kit.

Table 14.2 Performance relative to PCR of updated IDEIA™ Norovirus (K6044) and the previous version IDEIA™ Norovirus (K6043).

	Updated IDEIA™ Norovirus K6044	Previous version IDEIA™ Norovirus K6043
Sensitivity relative to PCR	72.8% (59/81)	55.4% (46/83)
Specificity relative to PCR	100% (37/37)	100% (37/37)
PPV	100% (59/59)	100% (46/46)
NPV	62.7% (37/59)	51.4% (83/120)
Outbreaks detected (No. detected by PCR)	16 (21)	12 (21)

PPV = Number of true positive samples correctly identified by the test

NPV = Number of true negative samples correctly identified by the test

14.3 CROSS REACTIVITY

The following micro-organisms were tested and shown to be negative in the IDEIA™ Norovirus test. Cross-reactivity tests were performed either on clinical specimens for which the microbial status had been determined, or on laboratory cultures of known organisms, containing approximately 10^7 - 10^8 viable organisms/mL. The source of micro-organisms is referenced in the key below:

Viruses

Adenovirus^a

Astrovirus^a

Rotavirus^a

Peptococcus sp

Peptostreptococcus sp

Proteus sp

Pseudomonas sp

Salmonella enteritidis^a

Salmonella typhimurium

Serratia sp

Shigella flexner^a

Shigella sonnei

Staphylococcus aureus

Staphylococcus epidermidis

Streptococcus group A

Veillonella sp

Vibrio cholerae^a

Vibrio parahaemolyticus^a

Bacteria

Acinetobacter sp

Aeromonas sp

Bacillus sp

Campylobacter coli^a

Campylobacter jejuni^a

Citrobacter sp

Clostridium perfringens^a

Clostridium difficile^a

Enterobacter sp

Escherichia coli

Enterococcus faecalis

Haemophilus influenzae

Helicobacter pylori

Klebsiella sp

Lactobacillus sp

Listeria sp

Other micro-organisms

Candida albicans^a

Key:

^aMicro-organisms present and tested in faeces

^bMicro-organisms tested both in faeces and in broth culture

All other micro-organisms were tested in broth culture

1 INTÉRÊT

Le test IDEIA™ Norovirus est un immunodosage enzymatique qualitatif destiné à détecter les Norovirus de génogroupe 1 et de génogroupe 2 dans les fèces humaines.

2 RÉSUMÉ

Les Norovirus, qui furent initialement connus sous le nom de petits virus ronds structurés^{1,2} (SRSV), sont des virus d'ARN torsadés isolés de la famille des Caliciviridae³.

Dans un premier temps, quatre types antigéniques de SRSV furent reconnus⁴ mais plus récemment, les techniques moléculaires ont permis d'identifier trois génogroupes au sein du genre Norovirus⁵. Le génogroupe 1 et le génogroupe 2 sont associés aux infections humaines, alors que le génogroupe 3 est associé à des infections bovines et porcines⁶.

Les Norovirus sont une cause majeure de gastro-entérite virale présentant un taux d'attaque élevé chez l'enfant et l'adulte^{7,8}. D'importantes épidémies peuvent se produire dans les hôpitaux⁹, les navires de croisière¹⁰, les écoles¹¹ et les zones résidentielles¹². Plusieurs épidémies se sont produites suite à l'ingestion d'eau et d'aliments contaminés, en particulier des crustacés. Les épidémies de Norovirus associées à la gastro-entérite hivernale en particulier peuvent se produire pendant les mois d'hiver en occident; toutefois, des cas sporadiques ainsi que des épidémies localisées d'origine alimentaire peuvent survenir toute l'année¹³.

Les épidémies dues aux Norovirus seraient plus communes que la gastro-entérite bactérienne¹⁴ et peuvent avoir un impact significatif sur la santé. Les infections des nouveaux-nés, des patients âgés et des personnes immunocompromises peuvent donner lieu à une déshydratation sévère. Les épidémies qui se déclarent à l'hôpital peuvent prolonger l'hospitalisation et le traitement des enfants infectés.

Le diagnostic en laboratoire des infections aux Norovirus joue un rôle important dans la gestion des patients et de la santé publique et fournit un diagnostic différentiel par rapport aux autres causes de gastro-entérite. Pour le moment, on n'est pas parvenu à cultiver les Norovirus dans les systèmes de cultures cellulaires ni à les isoler d'autres échantillons cliniques. La microscopie électronique est traditionnellement utilisée comme une aide au diagnostic mais est principalement confinée à des centres de référence car il s'agit d'une procédure coûteuse qui nécessite des compétences particulières. Plus récemment, une série de méthodes d'amplification moléculaire internes a été décrite¹⁵ mais ces méthodes ne sont pas normalisées et leur efficacité est influencée par les inhibiteurs présents dans les échantillons et par les milieux primaires utilisés. En outre, ces tests ne sont ni adaptés, ni économiques pour les tests de routine.

Récemment, des anticorps^{16,17} spécifiques aux génogroupes et aux génotypes ont été générés et se sont avérés utilisables dans les immunodosages¹⁸ enzymatiques rapides. Le test IDEIA™ Norovirus utilise des anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques au génogroupe 1 et au génogroupe 2 dans un immunodosage sur phase solide pour la détection rapide des génotypes de Norovirus.










3 PRINCIPE DU TEST

Le test IDEIA™ Norovirus utilise une combinaison d'anticorps monoclonaux et polyclonaux spécifiques à la fois au génogroupe 1 et au génogroupe 2 dans un immunodosage enzymatique « en sandwich » sur phase solide afin de détecter les Norovirus du génogroupe 1 et du génogroupe 2. Des micropuits sont revêtus d'un mélange d'anticorps monoclonaux spécifiques aux Norovirus du génogroupe 1 et du génogroupe 2. Une suspension fécale ou un échantillon de contrôle est ajouté au micropuits et incubé simultanément avec un mélange d'anticorps polyclonaux et monoclonaux de génogroupe 1 et de génogroupe 2 spécifiques aux Norovirus associé à de l'anti-péroxydase de raifort.



L'antigène de Norovirus présent dans l'échantillon est capturé entre les anticorps sur la phase solide et les anticorps associés à l'enzyme. Après 60 minutes d'incubation à température ambiante, les micropuits sont rincés à l'aide d'un tampon de lavage de force suffisante pour retirer l'excédent d'échantillon et les éventuels anticorps marqués par des enzymes libres. Un chromogène est ajouté aux micropuits et incubé pendant 30 minutes à température ambiante. La présence d'anticorps marqués par des enzymes spécifiquement liés dans les micropuits provoque un changement de couleur qui est arrêté par l'addition d'acide. Une intensité de couleur nettement supérieure aux niveaux d'arrière-plan indique la présence d'antigène de Norovirus dans l'échantillon ou l'échantillon de contrôle. Le test IDEIA™ Norovirus permettra de détecter les souches du génogroupe 1 et du génogroupe 2, mais ne les distinguera pas entre eux.

4 DÉFINITIONS

Les symboles suivants sont utilisés dans l'ensemble des informations relatives au produit.

	Code du produit et numéro de référence du catalogue
	Consulter les instructions d'utilisation
	Contenu suffisant pour <N> tests
	Fabriqué par
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Utiliser jusque
	Code du lot
	Limites de température de stockage
	Ajouter de l'eau

5 RÉACTIFS FOURNIS

 96 – Chaque trousse contient suffisamment de produits pour 96 échantillons directs.  - La durée de conservation de la trousse est indiquée sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

5.1 CONTENU D'IDEIA™ NOROVIRUS



Un livret d'instructions d'utilisation.

MICROTITRATION PLATE

1 x 96 plaque de microtitration du puits comportant 12, 8 bandes de séparation de micropuits revêtus d'un mélange d'anticorps monoclonaux spécifiques aux génogroupes 1 et 2 du Norovirus. La plaque est fournie dans un sachet métallisé refermable contenant une carte déshydratante pour le stockage ultérieur des micropuits inutilisés.

Un flacon de chacun des éléments suivants, sauf indication contraire:

SAMPLE DILUENT

110mL de Diluant de l'échantillon. Solution saline avec tampon tris contenant un agent antimicrobien et une teinture rouge.

CONTROL +

4 x Contrôle Positif lyophilisé : de particules de Novovirus de type viral exprimées par baculovirus.

CONJUGATE

13mL de Conjugué : anticorps polyclonaux (lapin) et monoclonaux (souris) marqués par peroxydase - aux génogroupes 1 et 2 du Norovirus dans une solution de protéines tamponnée contenant un agent antimicrobien et une teinture bleue.

CONTROL DILUENT

10mL de Diluant de Contrôle : solution saline tamponnée au phosphate contenant des agents antimicrobiens et une teinture verte.

WASH BUFFER (X25)

2 x 50mL de Concentré de Tampon de lavage (x25): solution tamponnée de tris contenant un détergent et un agent antimicrobien.

SUBSTRATE TMB

13mL de Substrat : 3,3',-5,5'-tétraméthylbenzidine (TMB) stabilisée par peroxyde dans une solution de tampon diluée. Le TMB a été signalé comme non carcinogène. Toutefois, un équipement de protection personnel est recommandé pour éviter l'exposition directe.

STOP SOLUTION

12mL de Solution d'Arrêt : Acide sulfurique à 0,46mol/L.

5.2 PRÉPARATION, STOCKAGE ET RÉUTILISATION DES ÉLÉMENTS DE LA TROUSSE

Le format de la trousse IDEIA™ Norovirus permet de tester jusqu'à 96 échantillons. Pour garantir une performance optimale de la trousse, il est important que les éléments inutilisés de la trousse soient stockés conformément aux instructions suivantes:

5.2.1 Micropuits revêtus d'anticorps - **MICROTITRATION PLATE**

Ouvrez le sachet de la plaque en le coupant le long de la fermeture. Détachez le nombre voulu de micropuits et replacez-les dans le cadre. Replacez tous les micropuits inutilisés dans le sachet refermable avec la carte déshydratante. Refermez soigneusement le sachet et stockez-le à une température située entre 2 et 8°C. Les micropuits se conservent jusqu'à 12 semaines après la première date d'ouverture, à condition qu'ils aient été stockés de la manière recommandée.

5.2.2 Diluant de l'échantillon - [SAMPLE DILUENT]

Prêt à l'emploi. Stockez le diluant d'échantillon inutilisé entre 2 et 8°C.

REMARQUE: Le diluant d'échantillon est nécessaire à une utilisation en tant que contrôle négatif et il faut en conserver suffisamment pour l'utiliser avec chaque lot d'échantillons testé. Lorsqu'il est utilisé en tant que contrôle négatif, le diluant d'échantillon doit être aliquoté dans un flacon identique à ceux utilisés pour la préparation des dilutions d'échantillon, afin de garantir que les flacons ne contiennent pas de substances interférentes.

5.2.3 Contrôle positif - [CONTROL +]

Reconstituez le nombre requis de Contrôle Positif lyophilisé avec 1mL de diluant de contrôle. Mélangez le contenu par inversion. Stockez le Contrôle Positif inutilisé entre 2 et 8°C et utilisez-le dans un délai d'un mois. Pour le stockage à long terme, stockez-le à - 20°C dans des aliquots appropriés.

5.2.4 Conjugué - [CONJUGATE]

Prêt à l'emploi. Stockez le Conjugué inutilisé entre 2 et 8°C.

5.2.5 Diluant de contrôle - [CONTROL DILUENT]

Prêt à l'emploi. Stockez le Diluant de Contrôle inutilisé entre 2 et 8°C.

5.2.6 Tampon de lavage - [WASH BUFFER (x25)]

Concentré x 25 fourni. Préparez un Tampon de lavage de force réactive en ajoutant 1 part de Concentré de Tampon de lavage à 24 parts d'eau déminéralisée ou distillée. **Préparez un tampon de lavage de force réactive le jour de l'utilisation.** Stockez le concentré inutilisé entre 2 et 8°C.

Ne stockez pas le Tampon de lavage de force réactive inutilisé pour une utilisation ultérieure (voir la section 8.2.10).

5.2.7 Substrat - [SUBSTRATE TMB]

Prêt à l'emploi. Stockez le Substrat inutilisé entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.

5.2.8 Solution d'arrêt - [STOP SOLUTION]

Prêt à l'emploi. Stockez la Solution d'Arrêt inutilisée entre 2 et 8°C.

6 RÉACTIFS SUPPLÉMENTAIRES

6.1 RÉACTIFS

Eau déminéralisée ou distillée pour la préparation du Tampon de lavage de force réactive.

6.2 ACCESSOIRES

Les produits suivants sont destinés à être utilisés conjointement avec IDEIA™ Norovirus. Pour plus d'informations, contactez votre filiale Oxoid ou votre distributeur.

IDEIA™ Gastroenteritis Sample Diluent 110mL (Code N° S6061).

IDEIA™ Gastroenteritis Wash Buffer Concentrate 50mL (Code N° S6126).

7 ÉQUIPEMENT

L'équipement suivant est requis:

Conteneurs adaptés au prélèvement d'échantillons de fèces.

Conteneurs jetables propres à bouchon à vis (d'une capacité minimale de 3mL) pour la préparation des suspensions fécales.

Flacon propre pour le contrôle négatif.

Papier absorbant propre (sur lequel les micropuits pourront être séchés).

Micropipettes de précision et pointes jetables permettant le transfert de volumes de 100µL et 1000µL (facultatif).

Conteneur de mise au rebut avec désinfectant frais adéquat.

Laveur de plaques automatisé (facultatif) ou équipement adéquat pour le lavage de 8 bandes de micropuits (section 10.2.4).


REMARQUE: pour laver moins de 8 micropuits de test sur une bande en utilisant un laveur automatisé avec une tête de 8 micropuits, il est important de remplir complètement les bandes de micropuits vides.

Spectrophotomètre ou lecteur de plaque EIA capable de lire une plaque de 96 micropuits de 8 bandes de micropuits à une absorbance de 450nm avec une référence à 620-650nm. (Facultatif, Section 10.3, Lecture des résultats du test).

Mélangeur de microplaques.

Des notes d'application relatives à l'utilisation sur des systèmes automatisés ouverts sont disponibles pour ce dosage. Contactez votre filiale Oxoid ou votre distributeur.

8 PRÉCAUTIONS

 - Pour diagnostic *in vitro*. Toute personne procédant à un dosage avec ce produit doit être formée à son utilisation et avoir l'expérience des procédures de laboratoire.

8.1 PRÉCAUTIONS DE SÉCURITÉ

- 8.1.1** La Solution d'Arrêt contient de l'acide sulfurique (0,46mol/L). Éviter tout contact avec la peau et les muqueuses. Si la solution d'arrêt entre en contact avec ces zones, rincer immédiatement à l'eau.
- 8.1.2** Ne pas manger, boire, fumer, stocker ou préparer des aliments ou appliquer des cosmétiques dans la zone de travail désignée.
- 8.1.3** Ne pas prélever de produits dans une pipette en utilisant la bouche.
- 8.1.4** Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons cliniques et les réactifs. Toujours se laver les mains après avoir travaillé sur des produits potentiellement infectieux.
- 8.1.5** Les échantillons, les contrôles positifs et tous les produits entrant en contact avec eux doivent être manipulés et mis au rebut comme s'ils étaient potentiellement infectieux.
- 8.1.6** Mettez au rebut tous les échantillons cliniques conformément à la législation en vigueur.
- 8.1.7** Les réactifs IDEIA™ Norovirus contiennent un agent antibactérien propriétaire qui ne présente aucun risque pour l'utilisateur si les précautions de sécurité normales en laboratoire sont observées.
- 8.1.8** La fiche toxicologique est disponible sur demande pour les usagers professionnels.

8.2 PRÉCAUTIONS TECHNIQUES

- 8.2.1** Les composants ne doivent pas être utilisés après la date d'expiration imprimée sur les étiquettes. Ne pas mélanger ou intervertir des lots de réactifs différents.
- 8.2.2** Les réactifs sont fournis à des concentrations fixes. La performance du test sera affectée si les réactifs sont modifiés ou stockés dans des conditions autres que celles qui sont détaillées à la Section 5.2.
- 8.2.3** Éviter la contamination des réactifs.
- 8.2.4** Utiliser des pipettes jetables ou des pointes de pipettes différentes pour chaque échantillon, contrôle ou réactif afin d'éviter la contamination croisée des échantillons ou des contrôles qui pourrait provoquer des résultats erronés.
- 8.2.5** Lors de l'ajout d'échantillons ou d'anticorps marqués par des enzymes dans les micropuits, éviter de laisser la pointe de la pipette entrer en contact avec les parois du micropuits.
- 8.2.6** Éviter la contamination par les ions métalliques et les agents oxydants.
- 8.2.7** Ne pas utiliser de substrat présentant une couleur bleue avant son ajout dans les micropuits.
- 8.2.8** Protéger le substrat de la lumière.
- 8.2.9** Les micropuits ne sont pas réutilisables.
- 8.2.10** Ne pas stocker le tampon de lavage de force réactive inutilisé pour une utilisation ultérieure. Lorsqu'ils ne sont pas utilisés, les réservoirs de tampon de lavage doivent être rincés à l'eau déminéralisée ou distillée et sécher à l'air.

8.2.11 L'équipement de lavage manuel ou automatisé doit être libre de toute contamination microbienne, correctement calibré et entretenu conformément aux instructions du fabricant.

9 PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

9.1 PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons fécaux doivent être prélevés dès que possible après l'apparition des symptômes.

L'excrétion de pointe de Norovirus dans les fèces de patients atteints de gastro-entérite interviendrait entre 25 et 72 heures après l'apparition des symptômes.

Les échantillons fécaux destinés à des tests directs doivent être prélevés dans des cuvettes libres de tout support, conservateur, sérum animal, ions métalliques, agents oxydants ou détergents, dans la mesure où tous ces additifs pourraient perturber le test IDEIA™ Norovirus.

Les échantillons peuvent être stockés pendant 3 jours entre 2 et 8°C avant le test. Pour le stockage à long terme, les échantillons fécaux doivent être stockés à -20°C.

9.2 PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS FÉCAUX

Verser 1mL de Diluant d'échantillon dans une cuvette adéquate étiquetée et l'utiliser pour préparer une suspension ou une dilution à 10% de l'échantillon fécal en ajoutant environ 0,1g de fèces solides (un morceau de la taille d'un petit pois) ou environ 100µL de fèces liquides. Mélanger soigneusement et laisser reposer pendant 10 minutes avant le test.

Après la préparation des échantillons, il est également possible de centrifuger la suspension pendant 5 minutes à ≥5000 tours/minute.

Les échantillons en suspension/dilution dans le diluant d'échantillon IDEIA™ Norovirus peuvent être stockés à 2-8°C pendant une durée maximale de 3 jours avant le test.

REMARQUE: les échantillons fécaux préparés dans le diluant d'échantillon IDEIA™ Astrovirus amplifié, IDEIA™ Rotavirus et IDEIA™ Adenovirus peuvent également être analysés à l'aide du test IDEIA™ Norovirus. L'utilisation d'autres diluants d'échantillon n'a pas été validée.

10 PROCÉDURE DE TEST

VEUILLEZ VOUS REPORTER À LA SECTION 8.2, PRÉCAUTIONS TECHNIQUES, AVANT DE PROCÉDER AU TEST.

Les réactifs et les échantillons doivent être ramenés à température ambiante (15-30°C) avant l'utilisation.

10.1 PRÉPARATION DES CONTRÔLES

Contrôle Négatif

Ajouter 1mL de Diluant d'échantillon à un flacon identique à ceux utilisés pour la dilution de l'échantillon.

Contrôle Positif

Le Contrôle Positif doit être reconstitué avec 1mL de diluant de contrôle et mélangé avant utilisation (voir la section 5.2.3).

Il faut inclure au moins un Contrôle Positif et un Contrôle Négatif IDEIA™ Norovirus avec chaque lot d'échantillons testés (voir la section 10.2.1).

10.2 PROCÉDURE DE DOSAGE

Lors de l'utilisation de flacons de réactif compte-gouttes, tenir les flacons verticalement, la buse se trouvant à environ 5mm au-dessus du micropuits. Serrer doucement le flacon et s'assurer que les gouttes tombent directement dans les micropuits, sans toucher les côtés. Éviter la contamination de tous les buse des flacons compte-gouttes. Les échantillons, les contrôles et le conjugué doivent être ajoutés à l'aide d'une micropipette.

10.2.1 Addition de l'échantillon

Placer le nombre requis de micropuits dans le porte-plaque.

Ajouter 100µL de chaque échantillon fécal dilué/sumageant de selles, de Contrôle Négatif et de Contrôle Positif dans différents micropuits. (Il faut inclure au moins un Contrôle Négatif et un Contrôle Positif dans chaque lot de tests).

Éviter de perturber ou d'échantillonner tout sédiment dans le flacon d'échantillon. Lors de la répartition des échantillons, tenir la pipette de transfert verticalement, la pointe immédiatement au-dessus du micropuits, et s'assurer que l'échantillon est transféré sans toucher les parois du micropuits. Veiller à éviter la contamination croisée des micropuits d'échantillons et de contrôles, car cela pourrait provoquer des résultats erronés.

10.2.2 Addition de Conjugué

REMARQUE: si plusieurs bandes de 8 micropuits sont utilisées, il est recommandé d'utiliser une pipette à 8 canaux.

Après l'addition de tous les échantillons et les contrôles dans les micropuits.

Ajouter 100µL de Conjugué dans tous les micropuits à l'aide d'une micropipette et mélanger doucement.

10.2.3 Première incubation

Incuber tous les micropuits à une température de 20-30°C pendant **60 ± 5 minutes**.

10.2.4 Lavage des micropuits

Les micropuits doivent être lavés à l'aide d'un Tampon de lavage de force réactive récemment préparé (voir la section 5.2.6).

La technique de lavage est essentielle à la performance du test (voir la section 8.2.11) et devrait être utilisée de manière à assurer un remplissage complet (avec au minimum **350µL** de Tampon de lavage de force réactive) et le vidage des micropuits.

Cinq cycles de lavage sont indispensables, à l'aide de techniques de lavage automatisées ou manuelles.

Lavage manuel

En cas de lavage manuel des micropuits, aspirer ou évacuer le contenu des micropuits en les secouant et en utilisant un Tampon de lavage récemment préparé, assurer le remplissage et le vidage complets des micropuits. Entre les différentes étapes de lavage, retirer tout le reste de Tampon de lavage en tapotant les micropuits renversés sur du papier absorbant propre. L'efficacité du lavage manuel est mieux assurée si le Tampon de lavage est versé dans une direction inclinée afin de produire un vortex dans les micropuits. Après le lavage final, la plaque doit être renversée et tapotée sur du papier absorbant pour retirer les dernières traces de Tampon de lavage.

Lavage automatisé

Les laveuses automatiques doivent être programmées pour effectuer au moins 5 cycles de lavage complets. Les laveuses doivent être correctement calibrées afin de garantir le remplissage et le vidage complets des micropuits entre chaque lavage. Après le dernier lavage, la plaque doit être renversée et tapotée sur du papier absorbant afin de retirer les dernières traces de lavage.

10.2.5 Addition de Substrat

Ajouter 2 gouttes (ou 100µL) de Substrat dans chaque micropuits.

10.2.6 Deuxième incubation

Incuber à une température de 20-30°C pendant **30 minutes**.

Les micropuits peuvent être lus **visuellement immédiatement** après la deuxième incubation (voir la section 10.3.1).

10.2.7 Arrêt de la réaction

Ajouter 2 gouttes (ou 100µL) de Solution d'Arrêt dans chaque micropuits.

Veiller à bien mélanger les micropuits avant de lire les résultats. Le produit coloré est stable pendant 30 minutes au maximum après l'addition de la Solution d'Arrêt.

10.3 LECTURE DES RÉSULTATS DU TEST

10.3.1 Lecture visuelle

Les micropuits peuvent être évalués visuellement immédiatement après la deuxième incubation. Pour tout micropuits dont l'intensité est difficile à interpréter par comparaison avec le Contrôle Négatif, il est recommandé de le lire également de manière photométrique après l'addition de la Solution d'Arrêt (voir la section 10.3.2).

10.3.2 Lecture photométrique

Les micropuits doivent être lus de manière photométrique dans les 30 minutes suivant l'addition de la Solution d'Arrêt. Mélanger le contenu des micropuits et lire l'absorbance de chaque micropuits à l'aide d'un spectrophotomètre approprié ou d'un lecteur de plaque EIA réglé sur 450nm. S'assurer que le fond des micropuits est propre avant la lecture et vérifier qu'aucune matière étrangère n'est présente dans les micropuits. Le lecteur doit être mis à blanc à l'air (c'est-à-dire sans plaque dans le chariot) avant que la plaque ne soit lue.

Par ailleurs, si le spectrophotomètre permet l'utilisation d'une longueur d'ondes de référence (à 620 à 650 nm), une lecture sur deux longueurs d'ondes doit être effectuée car cela élimine toute interférence potentielle due à des aberrations, telles que la poussière ou les traces, sur la surface optique des micropuits.

10.4 RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE DE DOSAGE IDEIA™ NOROVIRUS

Ajouter 100µL de Contrôle Positif, de Contrôle Négatif et d'échantillon de test dilué sur la plaque revêtue **CONTROL+**

Ajouter 100µL de Conjugué dans tous les puits à l'aide d'un mélange de micropipette **CONJUGATE**

Incuber à 20-30°C pendant 60 minutes

Laver (5x)

Ajouter 2 gouttes (100µL) de Substrat **SUBSTRATE TMB**

Incuber à 20-30°C pendant 30 minutes

Procéder immédiatement à une lecture visuelle (bleu)

Ou

Ajouter 2 gouttes (100µL) de Solution d'arrêt **STOP SOLUTION**

Procéder à une lecture photométrique de l'absorbance à 450nm (jaune) avec 620-650nm de référence.

11 INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DU TEST

11.1 CONTRÔLE NÉGATIF

Comme détaillé dans la section 10.1 (Préparation des contrôles), un Contrôle Négatif au moins doit être inclus dans chaque procédure de dosage.

Détermination photométrique

La valeur du Contrôle Négatif, ou la moyenne des valeurs de Contrôle Négatif, doit être inférieure à 0,150 unités d'absorbance.

11.2 VALEUR DE SEUIL

Calcul de la valeur de seuil

La valeur de seuil est calculée en ajoutant 0,10 unités d'absorbance à la valeur de Contrôle Négatif ou à la valeur moyenne lorsque plusieurs Contrôles Négatifs sont utilisés.

Détermination visuelle

Le micropuits de Contrôle Négatif ne doit pas présenter de couleur visible. Si ce n'est pas le cas, le test doit faire l'objet d'une lecture photométrique ou être répété.

11.3 CONTRÔLE POSITIF

Comme détaillé dans la section 10.1 (Préparation des contrôles), un Contrôle Positif au moins doit être inclus dans chaque procédure de dosage.

Détermination visuelle

Le micropuits de Contrôle Positif doit présenter une couleur bleue distincte et facile à distinguer du Contrôle Négatif. Si ce n'est pas le cas, les résultats du tests ne doivent pas être déterminés visuellement. Les résultats doivent faire l'objet d'une lecture photométrique ou le test doit être répété.

Détermination photométrique

Le Contrôle Positif doit présenter une valeur supérieure à 0,5 Au.

11.4 ÉCHANTILLONS

11.4.1 Détermination visuelle

Tout échantillon présentant une couleur bleue plus accentuée que la valeur de Contrôle Négatif doit être interprété comme positif, à condition que le Contrôle Négatif soit incolore. Les échantillons ne présentant pas de couleur visible doivent être considérés comme négatifs. Si le Contrôle Négatif présente des résultats de couleur bleue visible, les résultats doivent faire l'objet d'une lecture photométrique après l'addition de la Solution d'Arrêt ou la répétition du test.

Si, après l'addition de Substrat, le contenu d'un micropuits prend une couleur bleu foncé et forme un précipité bleu-noir, l'échantillon doit être considéré comme positif.

11.4.2 Détermination photométrique

Tout échantillon présentant une valeur d'absorbance supérieure à la valeur de seuil est positif (voir section 11.1). Tout échantillon présentant une valeur d'absorbance inférieure à la valeur de seuil doit être considéré comme négatif. Un résultat se situant dans un rayon de 0,010 unités d'absorbance de la valeur de seuil doit être considéré comme équivoque et le test doit être répété ou un nouvel échantillon doit être prélevé.

12 LIMITES DE PERFORMANCE

12.1 Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection au norovirus chez le patient. La non détection du norovirus peut être due à des facteurs tels que le prélèvement de l'échantillon à un moment inadéquat de la maladie, alors qu'aucun virion n'était présent, un prélèvement inadéquat et/ou une manipulation incorrecte de l'échantillon.

12.2 Le test IDEIA™ Norovirus détecte les protéines virales spécifiques au génogroupe présentes dans les géotypes humains du norovirus de génogroupe 1 et de génogroupe 2. Ce test ne doit pas être utilisé pour différencier les sérotypes de norovirus.

12.3 Les réactifs sont fournis à des concentrations de fonctionnement fixes. La performance du test sera affectée si les réactifs sont modifiés ou stockés dans des conditions autres que celles qui sont détaillées à la Section 5.2.

12.4 Tous les résultats positifs doivent être interprétés conjointement avec les informations cliniques concernant le patient. Les résultats du test doivent être interprétés conjointement avec les informations obtenues grâce aux études épidémiologiques, l'évaluation clinique du patient et d'autres procédures de diagnostic.

12.5 Les échantillons de méconium n'ont pas été validés pour l'utilisation avec le test IDEIA™ Norovirus.

12.6 Le test IDEIA™ Norovirus n'a pas été validé avec toutes les souches connues de norovirus et par conséquent, la non détection de norovirus peut être due à une diversité des antigènes dans les souches en circulation.

12.7 Un résultat positif n'exclut pas la présence d'autres pathogènes entériques. Même si la relation entre le norovirus et la gastro-entérite est bien établie, une infection concomitante par d'autres pathogènes microbiens est possible. Des tests microbiologiques supplémentaires doivent être effectués parallèlement avec le test IDEIA™ Norovirus afin d'exclure les autres causes possibles de la maladie.

13 VALEURS ATTENDUES

Les taux de positivité peuvent varier en fonction de la prévalence du Norovirus dans différentes populations, du géotype en circulation, du lieu géographique, de la méthode de prélèvement des échantillons, de la manipulation, du stockage, du transport des échantillons et de l'environnement sanitaire général de la population de patients faisant l'objet de l'étude.^{7,13}

Les norovirus sont une cause commune d'épidémies communautaires de gastro-entérite, en particulier dans les hôpitaux ou les résidences associés à >40% des épidémies au Royaume-Uni^{9,12}.

Les Norovirus sont fréquemment associés à des cas de gastro-entérite hivernale.

14 CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES DE PERFORMANCE

14.1 ÉTUDES CLINIQUES

Le test IDEIA™ Norovirus mis à jour a été évalué par rapport à la version précédente du test (K6043). Des études ont été menées sur des échantillons fécaux prélevés lors d'épidémies de gastro-entérite soupçonnées d'avoir été provoquées par le Norovirus dans l'ensemble du Royaume-Uni. Tous les échantillons avaient été testés au préalable par PCR. Les résultats des deux dosages IDEIA™ Norovirus ont été comparés au statut de PCR connu des échantillons.

14.2 PERFORMANCE CLINIQUE

En tout, 120 échantillons ont été testés, dont 83 échantillons présentant un résultat de PCR positif pour le Norovirus et 37 échantillons présentant un résultat PCR négatif pour le Norovirus.

Le dosage IDEIA™ Norovirus mis à jour présente une sensibilité et une valeur prédictive négative (NPV) supérieures au PCR, ainsi qu'une spécificité et une valeur prédictive positive (PPV) équivalentes à celles du PCR lorsqu'on ne compare avec la version précédente de la trousse.

Tableau 14.2 Performance relative du test IDEIA™ Norovirus mis à jour (K6044) et de la version précédente, IDEIA™ Norovirus (K6043).

	IDEIA™ Norovirus mis à jour K6044	Version précédente de IDEIA™ Norovirus K6043
Sensibilité par rapport au PCR	72,8% (59/81)	55,4% (46/83)
Spécificité par rapport au PCR	100% (37/37)	100% (37/37)
PPV	100% (59/59)	100% (46/46)
NPV	62,7% (37/59)	51,4% (83/120)
Epidémies détectées (nombre détecté par PCR)	16 (21)	12 (21)

PPV = Nombre d'échantillons positifs réels correctement identifiés par le test
NPV = Nombre d'échantillons négatifs réels correctement identifiés par le test

14.3 RÉACTIVITÉ CROISÉE

Les micro-organismes suivants ont été testés et sont apparus négatifs au cours du test IDEIA™ Norovirus. Des tests de réactivité croisée ont été effectués soit sur des échantillons cliniques dont le statut microbien avait été déterminé, soit sur des cultures de laboratoires d'organismes connus, contenant environ 10^7 - 10^8 organismes viables/mL. La source des micro-organismes est référencée dans la légende ci-dessous:

Virus

Adenovirus^a
Astrovirus^a
Rotavirus^a

Peptococcus sp
Peptostreptococcus sp
Proteus sp

Bactéries

Acinetobacter sp
Aeromonas sp
Bacillus sp
Campylobacter coli^a
Campylobacter jejuni^b
Citrobacter sp
Clostridium perfringens^a
Clostridium difficile^a
Enterobacter sp
Escherichia coli
Enterococcus faecalis
Haemophilus influenzae
Helicobacter pylori
Klebsiella sp
Lactobacillus sp
Listeria sp

Pseudomonas sp
Salmonella enteritidis^a
Salmonella typhimurium
Serratia sp
Shigella flexneri^a
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Streptococcus group A
Veillonella sp
Vibrio cholerae^a
Vibrio parahaemolyticus^a

Autres micro-organismes

Candida albicans^b

Légende:

^a Micro-organismes présents et testés dans les fèces

^b Micro-organismes testés à partir de selles et de milieu de culture en bouillon

Tous les autres micro-organismes ont été testés dans un bouillon de culture

1 ZWECKBESTIMMUNG

Der IDEIA™ Norovirus-Test ist ein qualitativer Enzymimmunoassay für den Nachweis von Noroviren der Genogruppe 1 und der Genogruppe 2 in humanem Stuhl.

2 ZUSAMMENFASSUNG

Noroviren, früher als kleine, runde, strukturierte Viren^{1,2} (SRSV bezeichnet, sind einzelsträngige RNA-Viren, die als Mitglieder der Familie Caliciviridae³ klassifiziert werden.

Es wurden zunächst vier Antigen-Typen der SRSV unterschieden⁴, neuerdings aber, durch die Anwendung molekularer Verfahren, wurden innerhalb der Gattung Norovirus⁵ drei Genogruppen identifiziert. Die Genogruppen 1 und 2 sind mit Infektionen bei Menschen verbunden, während die Genogruppe 3 mit Infektionen bei Rindern und Schweinen in Zusammenhang stehen.

Noroviren sind ein wichtiger kausaler Faktor für Gastroenteritis mit hohen Befallsraten bei Kindern und Erwachsenen^{7,8}. Ausbrüche von beträchtlichem Ausmaß kommen in Krankenhäusern⁹, bei Kreuzfahrten¹⁰ sowie in Schulen¹¹ und Pflegeheimen¹² vor. Einige Krankheitsausbrüche wurden durch das Trinken von kontaminiertem Wasser und durch die Einnahme von kontaminierter Nahrung, insbesondere Meeresfrüchten, verursacht. Epidemien von Norovirus in Verbindung mit Virusgastroenteritis (winter vomiting disease) können während der Wintermonate in der westlichen Hemisphäre entstehen, aber sporadische Fälle bzw. Ausbrüche innerhalb geschlossener Gemeinschaften oder über Nahrungsmittel können während des ganzen Jahres vorkommen¹³.

Berichten zufolge sind Ausbrüche von Norovirus-Erkrankungen häufiger als bakterielle Gastroenteritiden⁴, und sie können schwerwiegende volksgesundheitliche Auswirkungen haben. Infektionen bei Kleinkindern, älteren oder immungeschwächten Patienten können schwere Dehydrierungserscheinungen verursachen. Ausbrüche in Krankenhäusern können den stationären Aufenthalt und die Behandlung von infizierten Kindern verlängern.

Die Labordiagnostik des Norovirus spielt eine wichtige Rolle bei der Krankenbehandlung und im öffentlichen Gesundheitswesen, indem sie die Differentialdiagnose von anderen Arten der Gastroenteritis bietet. Bisher konnte Norovirus nicht einfach in Zellkulturen gezüchtet und auch nicht aus klinischen Proben isoliert werden. Elektronenmikroskopie ist ein traditionelles Hilfsmittel für die Diagnose, sie ist allerdings nur spezialisierten Zentren vorbehalten, da sie mit hohen Kosten verbunden ist und von besonderem Fachkönnen abhängt. Es wurde kürzlich eine Anzahl von laboreigenen Molekularamplifikationsverfahren beschrieben¹⁵, welche aber nicht gut standardisiert sind und deren Leistung von der Anwesenheit der Inhibitorstoffe in der Probe sowie von den verwendeten Primer-Sets beeinflusst wird. Darüber hinaus sind diese Tests in der Anwendung unbequem bzw. deren Preis-Nutzen-Verhältnis bei der routinemäßigen Testung nicht gerechtfertigt ist.

Kürzlich wurden genotyp- und genogruppenspezifische Antikörper^{16,17} entwickelt, und es wurde der Nachweis erbracht, dass sie sich für schnelle Enzymimmunoassays¹⁸ eignen. Der IDEIA™ Norovirus-Test verwendet genogruppen-1- und genogruppen-2-spezifische monoklonale und polyklonale Antikörper in einem Festphasen-Immunoassay für den Schnellnachweis der Norovirus-Genotypen.










3 TESTPRINZIP

Der IDEIA™ Norovirus-Test verwendet eine Kombination spezifischer monoklonaler und polyklonaler Antikörper der beiden Genogruppen: 1 und 2, in einem Enzymimmunoassay des Sandwich-Typs in der Festphase für den Nachweis von Norovirus der Genogruppe 1 und der Genogruppe 2. Mikrokavitäten werden mit einer Mischung von Norovirus-spezifischen monoklonalen Antikörpern der Genogruppe 1 und Genogruppe 2 beschichtet. Die Stuhlsuspension bzw. die Kontrollprobe wird in die Mikrokavität gegeben und gleichzeitig mit einer Norovirus-spezifischen, an Meerrettichperoxidase gekoppelten Mischung aus polyklonalen und monoklonalen Antikörpern der Genogruppe 1 und der Genogruppe 2 inkubiert.



Das in der Probe vorhandene Norovirus-Antigen wird zwischen den Antikörpern in der Festphase und den enzymgekoppelten Antikörpern aufgefangen. Nach 60-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur werden die Mikrokavitäten mit dem Waschpuffer in Arbeitskonzentration gewaschen, um das überschüssige Probenmaterial und die ungebundenen enzymmarkierten Antikörper zu entfernen. Ein Chromogen wird zusätzlich in die Kavitäten gegeben und bei Raumtemperatur 30 Minuten lang inkubiert. Die Anwesenheit der spezifisch enzymmarkierten Antikörper in den Kavitäten bewirkt eine Farbänderung, welche durch Zusatz von Säure gestoppt wird. Eine Farbintensität, die deutlich über dem Hintergrundniveau liegt, weist auf das Vorhandensein des Norovirus-Antigens in der Probe oder in der Kontrolle hin. Der IDEIA™ Norovirus-Test weist Stämme sowohl der Genogruppe 1 als auch der Genogruppe 2 nach, kann aber nicht zwischen ihnen unterscheiden.

4 SYMBOLERKLÄRUNG

Die nachfolgenden Symbole wurden überall in der Produktbeschreibung angewandt:

	Produktcode und Bestellnummer
	Gebrauchsanweisung beachten
	Für 'N' Bestimmungen ausreichend
	Hersteller
	<i>In-Vitro</i> -Diagnostikum
	Verwendbar bis
	Chargenbezeichnung
	Zulässiger Temperaturbereich
	Wasser hinzugeben

5 GELIEFERTE REAGENZIEN

 96 – Jeder Satz enthält Material, welches für 96 direkte Proben ausreichend ist.  - Die Lagerfähigkeit des Kits ist auf der äußeren Verpackung vermerkt.

5.1 IDEIA™ NOROVIRUS – INHALT



Eine Gebrauchsanweisungsbroschüre.

MICROTITRATION PLATE

1 Mikrotiterplatte mit 96 Mikrokavitäten mit 12 abbrechbaren Streifen zu je 8 Kavitäten, die mit einer Mischung von für Norovirus-spezifischen monoklonalen Antikörpern der Genogruppen 1 und 2 beschichtet sind. Die Platte befindet sich in einem wiederverschließbaren Folienbeutel mit Trockenmittel für die nachträgliche Wiederverwendung von nicht benutzten Kavitäten.

Je eine Flasche folgenden Inhalts, falls nicht anders bezeichnet:

SAMPLE DILUENT

110mL Probenverdünnungslösung: Trisgepufferte physiologische Kochsalzlösung mit einem antimikrobiellen Mittel und rotem Farbstoff;

CONTROL +

4 x Lyophilisierte Positivkontrollen: von Baculovirus exprimierte virusähnliche Norovirus-Partikeln.

CONJUGATE

13mL Konjugat: peroxidasemarkierte polyklonale Kaninchen-Antikörper und monoklonale Mausantikörper gegen Norovirus der Genogruppen 1 und 2 in gepufferter Eiweißlösung mit einem antimikrobiellen Mittel und blauem Farbstoff.

CONTROL DILUENT

10mL Kontrolllösungsmittel: phosphatgepufferte physiologische Kochsalzlösung mit einem antimikrobiellen Mittel und grünem Farbstoff.

WASH BUFFER (X25)

2 x 50mL Waschpuffer (25 fach konzentriert): gepufferte Tris-Kochsalzlösung mit antimikrobiellem Wirkstoff und einem Reinigungsmittel.

SUBSTRATE TMB

13mL Substrat: stabilisiertes Peroxid 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB) in einer verdünnten Pufferlösung. TMB ist laut Berichten nicht karzinogen. Nichtsdestotrotz wird persönliche Schutzausrüstung zwecks Vermeidung direkter Aussetzung empfohlen.

STOP SOLUTION

12mL Stopplösung: 0,46Mol/l Schwefelsäure.

5.2 ANSETZEN, LAGERUNG UND WIEDERVERWENDUNG DER KITBESTANDTEILE

Das Format des IDEIA™ Norovirus-Kits ermöglicht das Testen von bis 96 Proben. Damit eine optimale Testleistung gewährleistet wird, ist es wichtig bei der Lagerung der nicht verwendeten Kitkomponenten die nachstehenden Anweisungen zu befolgen:

5.2.1 Antikörperbeschichtete Mikrokavitäten - **MICROTITRATION PLATE**

Den Plattenbeutel durch Anschneiden entlang der Versiegelung öffnen. Die benötigte Anzahl Kavitäten abbrechen und in dem Rahmen platzieren. Alle nicht verwendeten Kavitäten und Streifen in den wiederverschließbaren Beutel zusammen mit der Trockenmaterialplatte geben. Den Beutel sorgfältig wieder verschließen und bei 2-8°C aufbewahren. Die Streifen können nach dem erstmaligen Öffnen bis zu 12 Wochen lang verwendet werden, vorausgesetzt sie werden in der beschriebenen Weise aufbewahrt.

5.2.2 Probenverdünner - **SAMPLE DILUENT**

Gebrauchsfertig. Nicht verbrauchte Probenverdünnungslösung bei 2-8°C lagern.

HINWEIS: Probenverdünner wird als Negativkontrolle gebraucht, und eine genügende Menge muss für den Gebrauch mit jedem Durchgang der Proben belassen werden. Beim Gebrauch als Negativkontrolle muss die Probenverdünnungslösung in ein Fläschchen aliquotiert werden, das mit denjenigen identisch ist, die auch für das Ansetzen der Probenverdünnungen verwendet werden, um sicherzustellen, dass die Fläschchen keine interferierenden Substanzen enthalten.

5.2.3 Positivkontrolle - **CONTROL+**

Die gewünschte Anzahl lyophilisierter Positivkontrollen mit 1mL Kontrollverdünnungsmittel ansetzen. Den Inhalt durch Umkehren mischen. Nicht gebrauchte Positivkontrollen bei 2-8°C aufbewahren und binnen eines Monats verwenden. Für längere Aufbewahrungsperioden in entsprechenden Aliquots bei -20°C lagern.

5.2.4 Konjugat - **CONJUGATE**

Gebrauchsfertig. Nicht verbrauchtes Konjugat bei 2-8°C lagern.

5.2.5 Kontrollverdünnungsmittel - **CONTROL DILUENT**

Gebrauchsfertig. Nicht verbrauchte Kontrollverdünnungslösung bei 2-8°C lagern.

5.2.6 Waschpuffer - **WASH BUFFER (X25)**

Geliefert als 25-faches Konzentrat. Waschpuffer in Arbeitskonzentration wird durch Zugabe von 24 Teilen frisch entionisiertem oder destilliertem Wasser zu 1 Teil Pufferkonzentrat angesetzt. **Der Waschpuffer in Arbeitskonzentration muss am Tag der Anwendung angesetzt werden.** Nicht verbrauchtes Konzentrat bei 2-8°C lagern.

Unverbrauchter Waschpuffer in Arbeitskonzentration darf nicht für spätere Benutzung aufbewahrt werden (Siehe Abschnitt 8.2.10).

5.2.7 Substrat - **SUBSTRATE TMB**

Gebrauchsfertig. Nicht verbrauchtes Substrat bei 2-8°C lagern, lichtgeschützt aufbewahren.

5.2.8 Stopplösung - **STOP SOLUTION**

Gebrauchsfertig. Nicht verbrauchte Stopplösung bei 2-8°C lagern.

6 ZUSÄTZLICHE REAGENZIEN UND ZUBEHÖR

6.1 REAGENZIEN

Frisch entionisiertes oder destilliertes Wasser zum Ansetzen des Waschpuffers in Arbeitskonzentration.

6.2 ZUBEHÖR

Die nachfolgenden Produkte sind für den gemeinsamen Gebrauch mit IDEIA™ Norovirus vorgesehen. Zusätzliche Informationen erhalten Sie bei der lokalen Vertretung von Oxoid oder bei Ihrem Händler.

IDEIA™ Gastroenteritis Sample Diluent 110mL (Code Nr. S6061).

IDEIA™ Gastroenteritis Wash Buffer Concentrate 50mL (Code Nr. S6126).

7 GERÄTE

Folgendes Zubehör ist notwendig:

Geeignete Behälter für die Gewinnung von Stuhlproben;

Saubere Einwegbehälter mit Schraubverschluss (Minimalinhalt 3mL) für die Vorbereitung von Stuhlsuspensionen;

Sauberes Probenröhrchen für Negativkontrolle;

Sauberes saugfähiges Papier (zum Ausklopfen der Mikrokavitäten);

Präzisionsmikropipetten und Einwegspitzen für 100µL und 1000µL (optional);

Ein Behälter für die Entsorgung mit einem geeigneten frischen Desinfektionsmittel;

Automatische Plattenwaschanlage (optional) oder geeignetes Zubehör für das Waschen von 8 Mikrokavitäten-Streifen (Abschnitt 10.2.4).


HINWEIS: Falls weniger als 8 Mikrokavitäten in einem Streifen in einer automatischen Waschanlage mit einem 8-Mikrokavitäten-Kopf gewaschen werden sollen, ist es wichtig die Streifen mit leeren Mikrokavitäten zu füllen.

Spektrofotometer oder EIA-Plattenlesegerät, welche imstande sind, eine Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten mit 8-Kavitätenstreifen bei 450nm Extinktion und einer Referenzwellenlänge von 620–650nm abzulesen. (Wahlweise, siehe Abschnitt 10.3, Lesen der Testergebnisse.)

Mikroplatten-Mixer.

Anwendungsmerkblätter für den Gebrauch mit automatischen offenen Systemen sind für dieses Assayverfahren erhältlich. Wenden Sie sich bitte an Ihre lokale Oxoid-Niederlassung oder an Ihren Händler.

8 VORSICHTSMASSNAHMEN

 - Zur Verwendung für *In-vitro*-Untersuchungen. Personen, die einen Test mit dem vorliegenden Produkt durchführen, müssen mit seiner Anwendung vertraut sowie in Laborprozeduren bewandert sein.

8.1 SICHERHEITSMASSNAHMEN

- 8.1.1** Die Stopplösung enthält Schwefelsäure (0,46mol/L). Kontakt mit der Haut und mit Schleimhäuten vermeiden. Falls die Stopplösung in Kontakt mit diesen Stellen kommt, sofort mit Wasser spülen.
- 8.1.2** Am Arbeitsplatz sind Essen, Trinken, Rauchen, Zubereiten von Speisen sowie die Verwendung von Kosmetika untersagt.
- 8.1.3** Nicht mit dem Mund pipettieren.
- 8.1.4** Beim Behandeln klinischer Proben und Reagenzien Einmalhandschuhe tragen. Nach der Arbeit mit potenziell infektiösen Materialien immer die Hände waschen.
- 8.1.5** Proben, Positivkontrollen und jegliche Materialien, die mit ihnen in Kontakt kommen, müssen als infektiös behandelt und dementsprechend entsorgt werden.
- 8.1.6** Alle klinischen Proben gemäß der lokalen Gesetzgebung entsorgen.
- 8.1.7** IDEIA™ Norovirus-Reagenzien enthalten ein markeneigenes antimikrobielles Mittel, welches für den Benutzer nicht gefährlich ist, falls die üblichen Sicherheitsvorschriften für Laborarbeit befolgt werden.
- 8.1.8** Sicherheitsdatenblätter sind für das Fachpersonal auf Anfrage erhältlich.

8.2 TECHNISCHE SICHERHEIT

- 8.2.1** Bestandteile nicht nach dem auf den Etiketten angegebenen Verfallsdatum verwenden. Verschiedene Chargen/Reagenzienkits nicht gegeneinander austauschen.
- 8.2.2** Die Reagenzien liegen in fixen Konzentrationen vor. Falls die Reagenzien geändert oder unter unterschiedlichen Bedingungen als den im Abschnitt 5.2 beschriebenen gelagert werden, wird die Testleistung dadurch beeinflusst.
- 8.2.3** Die Kontamination der Reagenzien vermeiden.
- 8.2.4** Für jede Probe, Kontrolle bzw. jedes Reagenz eine neue Einwegpipette oder neue Einwegspitze verwenden, um eine Kreuzkontamination anderer Proben, Kontrollen bzw. Reagenzien zu vermeiden, da ansonsten falsche Ergebnisse auftreten könnten.
- 8.2.5** Beim Zugeben von Proben oder enzymmarkierten Antikörpern zu den Kavitäten ist das Berühren der Pipettenspitze mit den Kavitäten-Wänden zu vermeiden.
- 8.2.6** Die Kontamination mit Metallionen oder mit oxydierenden Substanzen vermeiden.
- 8.2.7** Substrat, welches vor dem Zugeben in die Kavitäten eine blaue Verfärbung aufweist, darf nicht verwendet werden.
- 8.2.8** Substrat vor Licht schützen.
- 8.2.9** Mikrokavitäten nicht wieder verwenden.
- 8.2.10** Unverbrauchten Waschpuffer in Arbeitskonzentration nicht zur späteren Verwendung aufbewahren. Falls nicht gebraucht, müssen Vorräte an Waschpuffer mit entionisiertem oder destilliertem Wasser gespült und zum Trocknen belassen werden.

8.2.11 Handbetriebe oder automatische Wascheinrichtungen müssen frei von bakterieller Kontamination und richtig kalibriert sein und nach den Anweisungen des Herstellers instand gehalten werden.

9 GEWINNUNG UND VORBEREITUNG DER PROBEN

9.1 PROBENGEWINNUNG

Stuhlproben müssen so bald wie möglich nach dem Auftreten der Symptome gewonnen werden.

Berichten zufolge ist der Höhepunkt der Norovirus-Ausscheidung im Stuhl 25 bis 72 Stunden nach dem Auftreten der Symptome erreicht.

Stuhlproben für die Direkttestung müssen in Behälter gesammelt werden, welche keine Zusatzstoffe, Konservierungsmittel, tierisches Serum, Metallionen, oxydierende Stoffe oder Detergenzien enthalten, da das Vorhandensein solcher Zusätze den IDEIA™ Norovirus-Test beeinträchtigen könnte.

Proben können 3 Tage lang bei 2–8°C vor der Testung aufbewahrt werden. Für längere Aufbewahrungsperioden die Stuhlproben bei –20°C lagern.

9.2 VORBEREITUNG DER STUHLPROBEN

1mL Probenverdünnungslösung in einen geeigneten, etikettierten Behälter geben und daraus eine 10%ige Suspension bzw. Verdünnung der Stuhlprobe durch Zusatz von ungefähr 0,1g festen Stuhls (einer erbsengroßen Portion) oder ungefähr 100µL flüssigen Stuhls zubereiten. Sorgfältig mischen und vor dem Testen 10 Minuten lang stehen lassen.

Alternativ nach der Zubereitung der Proben 5 Minuten lang bei ≥5000 Umdrehungen pro Minute zentrifugieren.

In IDEIA™ Norovirus-Probenverdünnungsmittel suspendierte/verdünnte Proben können bei 2–8°C bis zu 3 Tage lang vor der Testung aufbewahrt werden.

HINWEIS: Stuhlproben, welche in Amplified IDEIA™ Astrovirus-, IDEIA™ Rotavirus- und IDEIA™ Adenovirus-Probenverdünnungsmittel zubereitet wurden, können ebenfalls mit dem IDEIA™ Norovirus-Test untersucht werden. Andere Probenverdünnungsmittel sind für die Testung nicht validiert worden.

10 TESTVERFAHREN

VOR DER DURCHFÜHRUNG DER TESTPROZEDUR SIEHE ABSCHNITT 8.2 BEZÜGLICH DER TECHNISCHEN SICHERHEITSMASSNAHMEN.

Vor dem Gebrauch müssen Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur (15-30°C) gebracht werden.

10.1 VORBEREITUNG DER KONTROLLEN

Negativkontrolle

1mL Probenverdünnungslösung in ein Probenröhrchen geben, welches mit denen identisch ist, die für die Verdünnung der Proben dienen.

Positivkontrolle

Die Positivkontrolle muss mit 1mL Kontrollverdünnungslösung angesetzt und vor Gebrauch gemischt werden (siehe Abschnitt 5.2.3).

Wenigstens eine Negativ- und eine Positiv-IDEIA™-Noroviruskontrolle muss mit jedem Durchgang der getesteten Proben mitgeführt werden (siehe Abschnitt 10.2.1).

10.2 ASSAYVERFAHREN

Falls Reagenztropfflaschen verwendet werden, müssen diese senkrecht, mit der Düse ungefähr 5 mm über der Kavität, gehalten werden. Die Flasche sanft drücken und sicherstellen, dass die Tropfen frei in die Kavitäten fallen, ohne die Seiten zu berühren. Eine Kontamination aller Tropfflaschendüsen vermeiden. Proben, Kontrollen und Konjugat müssen mittels Mikropipetten zugefügt werden.

10.2.1 Zugeben der Proben

Die entsprechende Anzahl von Kavitäten dem Kavitäten-Halter zuordnen.

In unterschiedliche Kavitäten je 100µL verdünnte Stuhlprobe/Stuhlüberstand, Negativkontrolle oder Positivkontrolle geben. (Mindestens eine Negativkontrolle und eine Positivkontrolle muss bei jedem Testdurchgang mitgeführt werden.)

Das Aufrühren oder Testen des Sediments im Probenröhrchen ist zu vermeiden. Bei der Verteilung von Proben muss die Übertragungspipette senkrecht gehalten werden, wobei darauf zu achten ist, dass sich die Spitze unmittelbar über der Kavität befindet und die gesamte Probe ohne Berührung der Kavitätenränder eingegeben wird. Es muss darauf geachtet werden, dass die Proben- und Kontroll-Kavitäten nicht kreuzkontaminiert werden, weil dies zu falschen Ergebnissen führen könnte.

10.2.2 Zugabe des Konjugats

HINWEIS: Falls mehrere 8-Kavitäten-Streifen verwendet werden, wird empfohlen eine 8-Kanalpipette zu gebrauchen.

Nach dem Eingeben aller Proben und Kontrollen in die Kavitäten

100µL Konjugat mit einer Mikropipette in alle Kavitäten geben und sanft mischen.

10.2.3 Erste Inkubation

Alle Kavitäten bei 20-30°C **60 ± 5 Minuten lang** inkubieren.

10.2.4 Waschen der Kavitäten

Die Kavitäten müssen mit einem frisch angesetzten Waschpuffer in Arbeitskonzentration gewaschen werden (siehe Abschnitt 5.2.6).

Die Technik des Waschens ist für die Durchführung des Tests von ausschlaggebender Bedeutung (siehe Abschnitt 8.2.11) und muss so ausgeführt werden, dass ein vollständiges Füllen (mit mindestens **350µL** Waschlösung in Arbeitskonzentration) und anschließendes Entleeren der Kavitäten gesichert wird.

Es sind fünf Waschzyklen, entweder mittels manueller oder automatischer Waschmethode, notwendig.

Manuelles Waschen

Falls manuell gewaschen wird, den Inhalt der Kavitäten aufsaugen oder ausschütteln und unter Verwendung von frisch angesetztem Waschlösung vollständiges Füllen und Entleeren der Kavitäten sicherstellen. Zwischen den einzelnen Waschschrritten den restlichen Waschlösung durch Ausklopfen der umgedrehten Kavitäten auf einem sauberen saugfähigen Papier ganz entfernen. Ferner kann die Wirksamkeit des manuellen Waschens dadurch gesichert werden, dass der Waschlösung schräg eingefüllt wird, wodurch in den Kavitäten eine Wirbelwirkung entsteht. Nach dem letzten Waschen muss die Platte umgedreht und auf saugfähigem Papier ausgeklopft werden, um die restlichen Spuren des Waschlösung zu entfernen.

Automatisches Waschen

Die Waschautomaten müssen auf 5 vollständige Waschzyklen programmiert werden. Die Waschautomaten müssen richtig kalibriert werden, um das vollständige Füllen und Entleeren der Kavitäten zwischen jedem Waschschrritt zu gewährleisten. Nach dem letzten Waschen muss die Platte umgedreht und auf saugfähigem Papier ausgeklopft werden, um die restlichen Spuren der Waschlösung zu entfernen.

10.2.5 Zugabe von Substrat

2 Tropfen (oder 100µL) Substrat jeder Kavität zugeben.

10.2.6 Zweite Inkubation

Bei 20-30°C **30 Minuten lang inkubieren**.

Die Kavitäten können nach der zweiten Inkubation **sofort visuell abgelesen werden** (siehe Abschnitt 10.3.1).

10.2.7 Stoppen der Reaktion

2 Tropfen (oder 100µL) Stopplösung jeder Kavität zugeben.

Gründliches Mischen der Kavitäten vor dem Ablesen der Ergebnisse sicherstellen. Das farbige Produkt ist bis 30 Minuten nach der Zugabe der Stopplösung stabil.

10.3 LESEN DER TESTERGEBNISSE

10.3.1 Visuelles Lesen

Die Kavitäten können sofort nach der zweiten Inkubation visuell bewertet werden. Es wird empfohlen alle Kavitäten, deren Farbintensität im Vergleich zur Negativkontrolle schwer zu interpretieren ist, auch fotometrisch nach der Zugabe der Stopplösung abzulesen (siehe Abschnitt 10.3.2).

10.3.2 Fotometrisches Lesen

Die Kavitäten müssen innerhalb 30 Minuten nach der Zugabe der Stopplösung fotometrisch abgelesen werden. Der Inhalt der Kavitäten muss durchgemischt werden und die Extinktion jedes Kavitäten wird mithilfe eines geeigneten Spektrofotometers oder EIA-Plattenlesers bei 450 nm abgelesen. Vor dem Ablesen muss sichergestellt werden, dass die Unterseiten der Kavitäten sauber sind und dass sie kein fremdes Material enthalten. Vor dem Scannen der Platte muss der Leser gegen Luft geblendet werden (d. h., ohne Platte im Halter).

Wahlweise, falls das Spektrofotometer die Anwendung einer Referenz-Wellenlänge (bei 620 bis 650 nm) erlaubt, sollte die Untersuchung bei Doppelwellenlänge erfolgen. Dies schließt eine potenzielle Interferenz aus, welche durch Aberrationen, wie etwa Staub oder Markierungen an der optischen Oberfläche der Kavitäten, verursacht werden kann.

10.4 ZUSAMMENFASSUNG DES IDEIA™ NOROVIRUS-ASSAY-VERFAHRENS

100µL der Positivkontrolle, Negativkontrolle und der zu bestimmenden Probe auf eine beschichtete Platte **CONTROL+** geben.

↓
100µL Konjugat je Kavität mit einer Mikropipette mischen **CONJUGATE**

↓
**Bei 20-30°C
60 Minuten lang inkubieren.**

↓
Waschen (x 5)

↓
2 Tropfen (100µL) Substrat **SUBSTRATE TMB**

↓
**Bei 20-30°C
30 Minuten lang inkubieren.**

↓
Sofort visuell ablesen (blau)
Oder
2 Tropfen (100µL) Stopplösung **STOP SOLUTION** zugeben.

↓
Extinktion bei 450nm (gelb) fotometrisch bei 620-650nm referenz ablesen.

11 INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

11.1 NEGATIVKONTROLLE

Wie in Abschnitt 10.1 (Vorbereitung der Kontrollen) erörtert, muss wenigstens eine Negativkontrolle bei jedem Testdurchgang mitgeführt werden.

Fotometrische Bestimmung

Der Wert der Negativkontrolle oder der Mittelwert der Negativkontrollen muss weniger als 0,150 Extinktionseinheiten betragen.

11.2 CUT-OFF-WERT

Berechnen des Cut-Off-Wertes

Der Cut-off-Wert wird errechnet durch Addition von 0,10 Extinktionseinheiten zum Negativkontrollwert (oder dem Mittelwert der Negativkontrollen, falls mehr als eine Negativkontrolle mitgeführt wird).

Visuelle Bestimmung

Die Kavität mit der Negativkontrolle darf keine Färbung aufweisen. Ist das nicht der Fall, muss der Test fotometrisch bestimmt oder wiederholt werden.

11.3 POSITIVKONTROLLE

Wie in Abschnitt 10.1 (Vorbereitung der Kontrollen) erörtert, muss wenigstens eine Positivkontrolle bei jedem Testdurchgang mitgeführt werden.

Visuelle Bestimmung

Die Kavität der Positivkontrolle muss eine deutliche blaue Färbung zeigen, welche sich klar von der Negativkontrolle unterscheidet. Ist dies nicht der Fall, dürfen die Ergebnisse nicht visuell bestimmt werden. Die Ergebnisse müssen fotometrisch bestimmt oder der Test muss wiederholt werden.

Fotometrische Bestimmung

Der Wert der Positivkontrolle muss 0,5 Extinktionseinheiten übersteigen.

11.4 PROBEN

11.4.1 Visuelle Bestimmung

Jede Probe, deren Blaufärbung stärker als die der Negativkontrolle ist, wird als positiv bewertet, vorausgesetzt, dass die Negativkontrolle farblos ist. Alle Proben, die keine sichtbare Färbung aufweisen, sind als negativ zu bewerten. Falls die Negativkontrolle eine sichtbare Blaufärbung aufweist, müssen alle Ergebnisse nach Zusatz der Stopplösung fotometrisch abgelesen oder der Test muss wiederholt werden.

Falls nach der Zugabe des Substrats der Inhalt einer Kavität dunkelblau wird und einen blauschwarzen Niederschlag bildet, ist die Probe als positiv zu bewerten.

11.4.2 Fotometrische Bestimmung

Jede Probe mit einem Extinktionswert, der größer als der Cut-off-Wert ist, ist positiv (siehe Abschnitt 11.1). Jede Probe mit einem Extinktionswert, der kleiner als der Cut-off-Wert ist, soll als negativ bewertet werden. Ein Ergebnis im Bereich von 0,010 Extinktionseinheit vom Cut-off-Wert wird als nicht ausschlaggebend bewertet, und der Test muss wiederholt oder der Patient nochmals getestet werden.

12 LEISTUNGSBESCHRÄNKUNGEN

12.1 Ein negatives Ergebnis schließt die Infektion mit Norovirus bei einem Patienten nicht aus. Einem fehlenden Norovirus-Nachweis können andere Faktoren zugrunde liegen, wie etwa die Probengewinnung zu einem ungeeigneten Zeitpunkt der Erkrankung, wenn noch zu wenig Virionen vorhanden sind, oder unzureichende Gewinnung bzw. Handhabung der Probe.

12.2 Der IDEIA™ Norovirus-Test weist genogruppenspezifische virale Proteine nach, die in den humanen Genogruppen 1 und 2 des Norovirus vorkommen. Der Test ist aber nicht zur Differenzierung der Norovirus-Serotypen geeignet.

12.3 Die Reagenzien liegen in festen Arbeitskonzentrationen vor. Falls die Reagenzien geändert oder unter unterschiedlichen Bedingungen als den im Abschnitt 5,2 beschriebenen gelagert werden, wird die Testleistung dadurch beeinträchtigt.

12.4 Alle positiven Ergebnisse müssen im Kontext der klinischen Information über den Patienten interpretiert werden. Die Testergebnisse müssen im Kontext der aus epidemiologischen Studien erhältlichen Informationen sowie der klinischen Bewertung des Patienten und aufgrund anderer diagnostischer Verfahren interpretiert werden.

12.5 Mekonium-Proben wurden im Zusammenhang mit dem Gebrauch des IDEIA™ Norovirus-Tests nicht validiert.

12.6 Der IDEIA™ Norovirus-Test wurde nicht mit allen bekannten Norovirus-Stämmen validiert, folglich könnte der mangelnde Nachweis des Norovirus durch die Antigen-Unterschiedlichkeit der zirkulierenden Stämme verursacht worden sein.

12.7 Ein positives Ergebnis schließt die Anwesenheit anderer Darmpathogene nicht aus. Obwohl der Zusammenhang zwischen Norovirus und Gastroenteritis gut belegt ist, ist es dennoch möglich, dass gleichzeitig auch eine andere mikrobielle Infektion besteht. Es sollten daher auch zusätzliche mikrobiologische Tests parallel zum IDEIA™ Norovirus-Test durchgeführt werden, um andere mögliche Krankheitsursachen auszuschließen.

13 ZU ERWARTENDE WERTE

Die Positivitätsrate kann je nach der Prävalenz des Norovirus in verschiedenen Populationen, entsprechend der geographischen Regionen, zirkulierenden Genotypen, Methoden der Probengewinnung, Bearbeitung, Aufbewahrung, Transport sowie je nach dem allgemeinen gesundheitlichen Umfeld der untersuchten Bevölkerung variieren^{7, 13}.

Noroviren sind eine häufige Quelle von Krankheitsausbrüchen der Gastroenteritis insbesondere in Krankenhäusern oder Heimen, und sie sind für mehr als 40% der Ausbrüche in Großbritannien verantwortlich^{9, 12}.

Noroviren sind häufig mit Fällen von Virusgastroenteritis (winter vomiting disease) assoziiert.

14 SPEZIFISCHE LEISTUNGSEIGENSCHAFTEN

14.1 KLINISCHE STUDIEN

Der verbesserte IDEIA™ Norovirus-Test wurde mit der früheren Version des Tests (K6043) verglichen. Untersuchungen wurden an Stuhlproben vorgenommen, welche während Norovirus-verdächtigen Gastroenteritis-Ausbrüchen in ganz Großbritannien gewonnen wurden. Alle Proben wurden anfänglich durch PCR getestet. Die Ergebnisse der beiden IDEIA™ Norovirus-Assays wurden mit dem bekannten PCR-Status der Proben verglichen.

14.2 KLINISCHE LEISTUNGSFÄHIGKEIT

Es wurden insgesamt 120 Proben getestet. Darunter waren 83 Proben, welche in der PCR Norovirus-positiv waren und 37 Proben, welche in der PCR negativ auf Norovirus testeten.

Der verbesserte IDEIA™ Norovirus-Assay ergab größere Sensitivität und besseren negative Vorhersagewert (NPV) im Vergleich zur PCR. Die Spezifität und der positiven Vorhersagewert (PPV) waren gegenüber PCR mit denen der früheren Version des Kits vergleichbar.

Tabelle 14,2 Testleistung relativ zur PCR des „updated IDEIA™ Norovirus (K6044)“ und der früheren Version „IDEIA™ Norovirus (K6043)“.

	Updated IDEIA™ Norovirus K6044	Frühere Version IDEIA™ Norovirus K6043
Sensitivität verglichen mit PCR	72,8% (59/81)	55,4% (46/83)
Spezifität verglichen mit PCR	100% (37/37)	100% (37/37)
PPV	100% (59/59)	100% (46/46)
NPV	62,7% (37/59)	51,4% (83/120)
Nachgewiesene Ausbrüche (Anzahl nachgewiesen durch PCR)	16 (21)	12 (21)

PPV = Anzahl der echt positiven Proben, die durch den Test richtig erkannt wurden
NPV = Anzahl der echt negativen Proben, die durch den Test richtig erkannt wurden

14.3 KREUZREAKTIVITÄT

Die nachfolgenden Mikroorganismen wurden getestet und erwiesen sich im IDEIA™ Norovirus-Test als negativ. Kreuzreaktivitätsversuche wurden entweder an klinischen Proben mit feststehendem mikrobiellem Status oder an Laborkulturen bekannter Organismen mit ungefähr 10^7 - 10^9 /mL lebensfähigen Organismen durchgeführt. Der Quellennachweis der Mikroorganismen ist aus dem unten aufgeführten Schlüssel ersichtlich:

Viren

Adenovirus^a
Astrovirus^a
Rotavirus^a

Peptococcus sp
Peptostreptococcus sp
Proteus sp

Bakterien

Acinetobacter sp
Aeromonas sp
Bacillus sp
Campylobacter coli^a
Campylobacter jejuni^a
Citrobacter sp
Clostridium perfringens^a
Clostridium difficile^a
Enterobacter sp
Escherichia coli
Enterococcus faecalis
Haemophilus influenzae
Helicobacter pylori
Klebsiella sp
Lactobacillus sp
Listeria sp

Pseudomonas sp
Salmonella enteritidis^a
Salmonella typhimurium
Serratia sp
Shigella flexneri^a
Shigella sonnei
Staphylococcus aureus
Staphylococcus epidermidis
Streptococcus group A
Veillonella sp
Vibrio cholerae
Vibrio parahaemolyticus^a

Andere Mikroorganismen

Candida albicans^b

Schlüssel:

^a Mikroorganismen, die im Stuhl vorkommen und in Stuhlproben getestet wurden

^b Sowohl in Stuhlproben als auch in Flüssigmedium getestete Mikroorganismen
Alle anderen Mikroorganismen wurden in Bouillonkultur getestet.

1. **Jiang, X., D.Y. Graham, K. Wang, and M.K. Estes. (1990)**
Norwalk virus genome cloning and characterisation
Science **250**:1580-1583.
2. **Jiang, X.M. Wang, K. Wang, and M.K. Estes (1993)**
Sequence and genomic organisation of Norwalk virus.
Virology **195**:51-61.
3. **Green, K. Y., T. Ando, M.S. Balayan, I.N. Clarke, M.K. Estes, D.O. Matson, S. N Nakata, J.D. Neill, M.J. Studdert, and H.J. Theil**
Caliciviridae, In M.H. van Regenmortel, C.M. Fauquet, D.H.L. Bishop, E.B. Carsten, M.K. Estes, S.M. Lemon, J. Maniloff, M.H. Mayo, D.J. McGeoch, C.R. Pringle, and R.B. Wickner (ed.), *Virus taxonomy*. Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses, in press. Academic Press, Orlando, Fla.
4. **Lewis, D. (1991)**
Norwalk agent and other small round structured viruses in the U.K.
J. Infect. **23**:220-222.
5. **Green S.M., K.E. Dingle, P.R. Lambden, E.O. Caul, C.R. Ashley, and I.N. Clarke (1994)**
Human enteric Caliciviridae; a new prevalent SRSV group defined by RNA-dependent RNA polymerase and capsid diversity.
J. Gen. Virol. **75**:1883-1888.
6. **Ando T, Noel JS, Fankhauser (2000)**
RL. Genetic classification of "Norwalk-like viruses."
J Infect Dis **181**(suppl 2):S336—48.
7. **Blacklow, N.R. and H.B. Greenberg. (1990)**
Viral gastroenteritis.
N. Engl. J. Med. **325**:252-264.
8. **E. Owen Caul (1996)**
Viral gastroenteritis: Small round structured viruses, caliciviruses and astroviruses. Part 1. The clinical and diagnostic perspective.
J Clin Pathol **49**:874-880.
9. **Chadwick, P.R., and R. McCann, (1994)**
Transmission of a small round structured virus by vomiting during a hospital outbreak of gastroenteritis.
J. Hosp. Infect. **26**:251-259.
10. **McEvoy, M., W. Balke, D. Brown, J. Green, and R. Cartwright. (1996)**
An outbreak of viral gastroenteritis on a cruise ship.
Commun. Dis. Rep. CDR Rev. **6**:R188-R192.
11. **Kobayashi, S., T. Morishita, T. Yamashita, K. Sakae, O. Nishio, T. Miyake, Y. Ishihara, and S. Isomura. (1991)**
A large outbreak of gastroenteritis associated with a small round structured virus among schoolchildren and teachers in Japan.
Epidemiol. Infect. **107**:81-86.

12. **Jiang, X., E. Turf, J.Hu, E. Barrett, X.M. Dal, S. Monroe, C. Humphrey, L.K. Pickering, and D.O. Matson. (1996)**
Outbreaks of gastroenteritis in elderly nursing homes and retirement facilities associated with human caliciviruses.
J. Med. Virol. **50**:335-341.
13. **E. Owen Caul (1996)**
Viral gastroenteritis: Small round structured viruses, calciviruses and astroviruses. Part II. The epidemiological perspective.
J Clin Pathol.**49**:959-964.
14. **H.S Evans, P. Madden, C. Douglas, G.K. Adak, S.J. O'Brien, T. Djuretic, P.G. Wall, R. Stanwell-Smith. (1998)**
General outbreaks of infectious intestinal disease in England and Wales: 1995 and 1996.
Commun Dis Public Health **1**:165-71.
15. **Green J. Hale A.D, Brown DWG. (1995)**
Recent developments in the detection and characterisation of small round structured viruses.
PHLS Microbiology Digest:**12**:219-22.
16. **James P. Brinkler, Neil R. Blacklow, Mary K. Estes, Christine L. Moe, Kellogg J. Schwab, and John E. Herrmann. (1998)**
Detection of Norwalk Virus and other genogroup 1 human Caliciviruses by a Monoclonal Antibody, Recombinant-Antigen-Based Immunoglobulin M. Capture Enzyme Immunoassay.
Journal of Clinical, Microbiology.p.1064-1069.
17. **Antony D. Hale, Tomoyuki N. Tanaka, Noritoshi Kitamoto, Max Ciarlet, Xi Jiang, Naokazu Takeda, David W.G. Brown, and M. K. Estes. (2000)**
Identification of an Epitope Common to Genogroup 1 "Norwalk-Like Viruses".
Journal of Clinical Microbiology. p.1656-1660.
18. **Vipond IB, Pelosi E, Williams J, Ashley CR, Lambden PR, Clarke IN, Caul EO. (2000)**
A diagnostic EIA for detection of the prevalent SRSV strain in United Kingdom outbreaks of gastroenteritis.

TECHNICAL ADVICE AND CUSTOMER SERVICE
CONSEIL TECHNIQUE ET SERVICE CLIENTELE
TECHNISCHE BERATUNG UND KUNDENDIENST

For all enquiries please contact your local Oxoid.
subsidiary or distributor.

Pour toute information, veuillez contacter votre filiale ou
votre distributeur local(e) Oxoid.

Anfragen jeder Art richten Sie bitte an die für Sie zuständige Oxoid-
Niederlassung oder an Ihren Händler.

IDEIA™ Norovirus
August 2006 9807048EFG