

NOROVIRUS

Método Inmunocromatográfico Rápido para detectar *Norovirus* en Deposiciones

Catálogo
702510

Presentación
25 det.

Uso Previsto

El test rápido de *Norovirus*, es un análisis inmunocromatográfico para la detección cualitativa de *Norovirus* en muestras de deposición humana para ayudar en el diagnóstico de infección por *Norovirus*.

Resumen

Norovirus (NoV) son un grupo de virus diversos genéticamente sin envoltura de una sola cadena de RNA que pertenecen a la familia Calciviridae. Por décadas fueron llamados "Pequeños Virus de estructura redonda" (SRSV) o Virus como-Norwalk hasta hace poco, cuando su taxonomía fue investigada usando técnicas moleculares modernas. Inicialmente 4 tipos antigénicos de SRSV fueron reconocidos, pero recientemente 3 genogrupos han sido identificados con el gen *Norovirus*. Genogrupo 1 y Genogrupo 2 están asociados con las infecciones humanas mientras que el Genogrupo 3 está asociado con infecciones porcinas y bovinas.

Los *Norovirus* son la mayor causa de gastroenteritis aguda en todo el mundo que a menudo causan brotes explosivos en las instituciones. Son altamente contagiosos, con una inoculación tan pequeña como 10 partículas son capaces de causar infección. La transmisión ocurre a través de la ingestión de aguas y alimentos contaminados y a través de persona a persona. La transmisión es predominantemente fecal-oral, pero puede ser aérea, debido a la aerolisación de vómitos, que típicamente contiene abundantes partículas de virus infeccioso. Los brotes pueden involucrar varias rutas de transmisión. La enfermedad es aguda, generalmente suave, aunque ha causado muertes entre los ancianos frágiles y autolimitados y continúa con un período de incubación de 24-48 hrs., aunque pueden ocurrir casos dentro de las 12 hrs. de la exposición. La habilidad del *Norovirus* de causar brotes en instituciones se ha vuelto un tema importante en Salud Pública. Los brotes de infección por *Norovirus* se pueden asociar con restaurantes e instituciones tan diversas como sala cunas, hospitales y campos de deportes elite. Las infecciones en niños, ancianos y pacientes débiles pueden ser fatales si se dejan sin tratar.

Los síntomas de infección por *Norovirus* generalmente incluyen náuseas, vómitos, diarreas y algunos cólicos estomacales. Adicionalmente algunas personas acusan algo de fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolores musculares y una sensación general de cansancio. La enfermedad a menudo aparece de repente y la persona infectada se puede sentir muy enferma. En la mayoría de las personas la enfermedad es autolimitante con síntomas que duran alrededor de 1-2 días. En general, los niños presentan más vómitos que los adultos.

Principio

El presente test *Norovirus* (heces), es un inmunoanálisis de flujo lateral cualitativo para la detección de *Norovirus* en muestras de heces humanas

El método emplea anticuerpos monoclonales específicos contra el Genogrupo 1 y Genogrupo 2 inmovilizado en la membrana. Durante el test, la muestra de deposiciones reacciona con los anticuerpos conjugados en la membrana y fluye a través de ella, para reaccionar finalmente con los anticuerpos contra los Genogrupos 1 y 2 en la región test, formando un complejo antígeno-anticuerpo, en la ventana de Reacción Positiva en (T1) y/o (T2) respectivamente, produciendo bandas de color rosado. La presencia de una línea coloreada en T1 indica un resultado positivo para Genogrupo 1 y en la región T2, para el Genogrupo 2 respectivamente, mientras que su ausencia, indica un resultado negativo. El conjugado remanente migra hacia el área Control (C) del sistema test, formando siempre una línea rosada (correcto funcionamiento de los reactivos).

Composición del Kit

- 25 bolsas metalizadas selladas. Cada bolsa contiene un Sistema test cuya membrana contiene partículas recubiertas con anticuerpos monoclonales a los Genogrupos 1 y 2 (anti- *Norovirus*).

Estabilidad: El test es estable hasta la fecha de expiración a (2 - 30) °C. Si la temperatura excede los 37°C, se recomienda refrigerar. ¡¡ NO CONGELAR!!

- 25 tubos de recolección de muestra con aplicador y una solución tampón en su interior (2,0 ml)

Muestra

Deposiciones: se deben recolectar apenas aparezcan los primeros síntomas. (El peak viral se produce a los 3-13 días. Si las muestras se recolectan mucho después del peak, la cantidad de antígeno puede ser no suficiente para obtener una reacción positiva o los antígenos detectados pueden no estar ligados al episodio diarreico) y en cantidad suficiente (1-2 g o 1-2 ml), en un envase limpio y seco, a prueba de agua y que no contenga detergentes, preservativos o medios de transporte.

Estabilidad: La muestra diluida se puede guardar hasta 3 días a 2-8-°C o congelada.

Se obtienen mejores resultados si el análisis se realiza dentro de las 6 hrs. después de la recolección.

Procedimiento

-Llevar las muestras y reactivos a temperatura ambiente.

1.- **A- Muestra sólida:** sacar una porción representativa con el aplicador que viene en el interior de los tubos de recolección. Para ello, destornillar y sacar la tapa del tubo de recolección junto con el aplicador, evitando salpicar la solución tampón. Insertar el aplicador en distintos sitios de la muestra (por lo menos 3), hasta que sean **50 mg** aproximadamente.

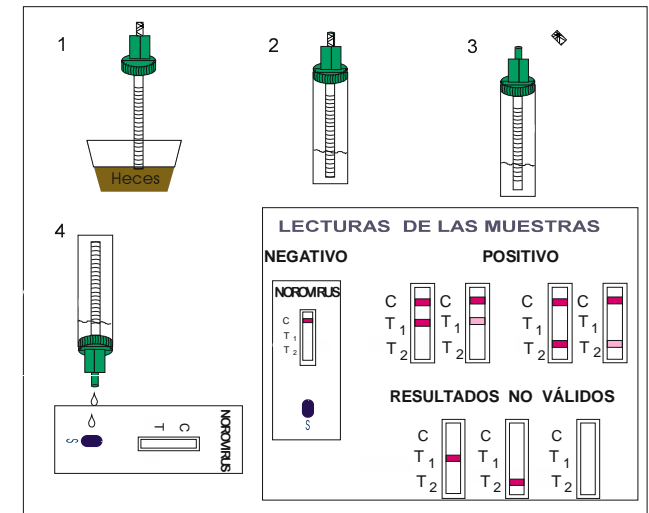
B- Muestra líquida: aspirar la muestra fecal, con el gotario colocado verticalmente, aproximadamente **2 gotas**, las que se transfieren al tubo de recolección que contiene el buffer.

2.- Reinsertar la tapa/aplicador en el tubo, apretando muy bien y evitando romper el extremo de la tapa. Agitar vigorosamente para mezclar buffer y muestra. Dejar reposar 1-2 min.

3.- Sacar el *sistema test* de su envoltorio metalizado y colocarlo sobre una superficie plana.

4.- Desatornillar la tapita superior del tubo con la muestra, invertirlo y colocar **2 gotas llenas** de muestra extraída y homogénea, en la celda de muestra (S) del "sistema test"

Esperar hasta **15 minutos** e interpretar los resultados. No interpretar los resultados más allá de 20 minutos.



Inmunodiagnóstico

Number: 14540200

Effective Date: 2015 - 01 - 20

NOROVIRUS

Método Inmunocromatográfico Rápido para detectar *Norovirus* en Deposiciones

Catálogo
702510

Presentación
25 det.

Interpretación de los resultados

T1 Positivo: se observan 2 líneas de color Rosado en la región **C** y otra en la región **T1 del Genogrupo 1**.

T2 Positivo: se observan 2 líneas de color Rosado en la región **C** y otra en la región **T2 del Genogrupo 2**.

NOTA: La intensidad de color de las líneas en la región de la prueba (**T1 y T2**) puede variar, dependiendo de la concentración de antígenos *Norovirus* presentes en la muestra. Por lo tanto, cualquier coloración, por muy débil que sea, de la línea en la región de la prueba (**T1 o T2**), deberá considerarse positiva.

Negativo: aparece una sola banda de color Rosado en la región **C**. Además, esto significa una correcta ejecución de la técnica.

No Válido: Si no aparece ninguna banda de color en la región (**C**), aun cuando aparezcan o no en la región (**T1 o T2**) el test debe considerarse nulo; ya sea por error o por deterioro del mismo. En este caso el ensayo debe repetirse.

Limitaciones

- El cassette de prueba debe permanecer en su bolsa metalizada sellada hasta su uso. No usar si la bolsa está dañada.
- No comer, beber o fumar en el área en donde se manejan las muestras y reactivos.
- El presente test es solo para uso de diagnóstico *in vitro*. Además debe ser usado solamente para la detección de *Norovirus* en muestras de deposición humana. No se puede determinar ni un valor cuantitativo ni la velocidad de aumento de *Norovirus* por este método cualitativo.
- Manejar las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos durante la prueba y siga los procedimientos estándares para una apropiada eliminación de las muestras.
- Use ropa protectora tales como delantal de laboratorio, guantes desechables y protector de los ojos cuando las muestras están siendo analizadas.
- La humedad y temperatura pueden afectar adversamente los resultados.

Valores esperados

El presente test ha sido comparado con el método RT-PCR, demostrando una exactitud de un 94,29 %

Características de la realización

Sensibilidad, especificidad y exactitud clínica

La realización del presente test ha sido evaluada con 70 muestras clínicas recolectadas de niños y adultos jóvenes, en comparación con el método RT-PCR.

| METODO | | RT-PCR | | RESULT. TOTAL |
|-----------------------|------------|--------|-----|---------------|
| TEST ACTUAL NOROVIRUS | RESULTADOS | (+) | (-) | |
| | (+) | 44 | 2 | 46 |
| | (-) | 2 | 22 | 24 |
| RESULTADO TOTAL | | 46 | 24 | 70 |

Sensibilidad Relativa: 95.65% (95%CI:*85.16%-99.57%)

Especificidad Relativa: 91.67% (95%CI:*73.00%-98.97%)

Exactitud: 94.29% (95%CI:*86.01%-98.42%)

*Intervalo de confianza

Precisión Intra-análisis

La precisión intra-análisis se determinó utilizando 10 replicados de 4 muestras: negativa, positiva baja, positiva media y positiva alta. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99 % de las veces.

Precisión Inter-análisis

Fue determinada en 10 análisis independientes de las mismas 4 muestras anteriores. Las muestras fueron correctamente identificadas > 99 % de las veces

Reacciones Cruzadas

Se analizaron los siguientes organismos a $1,0 \times 10^9$ organismos por test y todos fueron encontrados negativos cuando se analizaron con el presente test:

Estafilococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa
Acinetobacter calcoaceticus
E. coli
Klebsiella pneumoniae
Branhamella catarrhalis
Candida albicans
Proteus mirabilis
Acinetobacter spp
Salmonella choleraesius

Gardnerella vaginalis
Enterococcus faecalis
Esrtptococcus grupo B
Esrtptococcus Grupo C
Chlamydia trachomatis
Proteus vulgaris
Neisseria gonorrhoea
Enterococcus faecium
Hemophilus influenzae
Neisseria meningitidis

Bibliografía

- 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
- 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
- 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.
- 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.

Inmunodiagnóstico

Number: 14540200

Effective Date: 2015 - 01 - 20