
CERTEST

Norovirus GI+GII

ONE STEP
Norovirus GI+GII COMBO
CARD TEST

CERTEST BIOTEC S.L.



ESPAÑOL**USO PREVISTO**

CerTest *Norovirus* GI+GII combo card test es una prueba inmunocromatográfica de un solo paso para la detección cualitativa simultánea de *Norovirus* genogrupos I y II (GI y GII) en muestras de heces.

CerTest *Norovirus* GI+GII combo card test ofrece un ensayo de cribado sencillo y de alta sensibilidad para realizar un diagnóstico presuntivo de infección por *Norovirus*.

INTRODUCCIÓN

Los *Norovirus* son la principal causa de gastroenteritis epidémica, incluyendo brotes de origen alimentario, en los Estados Unidos. Los *Norovirus* pertenecen a la familia Calciviridae y se pueden agrupar en cinco genogrupos (desde GI a GV), que se dividen en al menos 34 genotipos. Los genotipos GI, GII y GIV infectan a los humanos, causando gastroenteritis, mientras que GIII y GV normalmente infectan a los animales.

Los síntomas de las enfermedades relacionadas con *Norovirus* son los típicos de la gastroenteritis, es decir, vómitos, diarrea acuosa y calambres abdominales. El vómito es un síntoma característico en la mayoría de las infecciones por *Norovirus* (ocurre en el 64 % de los adultos y el 81% de los niños). Otros síntomas como malestar general, náuseas, algo de fiebre y fatiga también están presentes en más del 90% de los casos. El período de incubación de la enfermedad es generalmente entre 12 y 48 horas, mientras que la infección dura entre 12 y 60 horas. La infección también puede ser asintomática, y por lo tanto contribuir a la propagación del virus en la comunidad. Como regla general, la enfermedad no tiene consecuencias graves, y la mayoría de los pacientes se recuperan en 1-2 días sin complicaciones. Los pacientes debilitados y las personas con sistemas inmunológicos débiles, como los niños, pacientes de edad avanzada o crónica pueden verse afectadas por las formas más graves de la enfermedad. Especialmente, la deshidratación puede representar una complicación grave para los niños, los ancianos y las personas con un balance metabólico o inestabilidad cardio circulatoria.

FUNDAMENTO DEL TEST

CerTest *Norovirus* GI+GII es una prueba cualitativa inmunocromatográfica para la detección de *Norovirus* GI y GII en muestras de heces.

Tira A consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Norovirus* GI en la línea de test (T), en la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Norovirus* GI) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Tira B consiste en una membrana de nitrocelulosa fijada previamente con anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Norovirus* GII en la línea de test (T), de la ventana de resultados, y en la línea de control (C), con anticuerpos policlonales de conejo frente a una proteína específica. En el material absorbente para la muestra se ha dispensado una preparación de reactivos para la línea de test (anticuerpos monoclonales de ratón frente a *Norovirus* GII) conjugada con látex de poliestireno rojo y otra preparación para la línea de control (proteína específica de unión) conjugada con látex de poliestireno verde, formando dos complejos coloreados conjugados.

Si la muestra es *Norovirus* GI positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Norovirus* GI-microesferas rojas de látex) en la tira A, y si la muestra es *Norovirus* GII positiva, los antígenos de la muestra diluida reaccionan con el complejo conjugado coloreado rojo (anticuerpos monoclonales anti-*Norovirus* GII-microesferas rojas de látex) en la tira B, los cuales fueron secados previamente en el material absorbente. Esta mezcla avanza por capilaridad a través de la membrana. Conforme la muestra va migrando también lo hacen los complejos conjugados. Los anticuerpos anti-*Norovirus* GI presentes en la membrana de la tira A (línea de test) y los anticuerpos anti-*Norovirus* GII presentes en la membrana de la tira B (línea de test) capturarán el complejo coloreado del test y la línea roja aparecerá en ambas tiras. Estas líneas se usarán para interpretación del resultado.

Si la muestra es negativa, no hay presencia de antígenos de *Norovirus* GI y GII, o los antígenos están presentes en una concentración inferior al límite de detección y no se producirá reacción con ningún complejo coloreado rojo. Los anticuerpos anti-*Norovirus* presentes en las membranas (líneas de test) no capturarán el antígeno-complejo coloreado rojo (no formado) y no aparecerán las líneas rojas.

Independientemente de que la muestra sea positiva o no, en ambas tiras, la mezcla continuará moviéndose a través de las membranas hacia los anticuerpos inmovilizados frente a la proteína específica localizados en las líneas de control. Estos anticuerpos anti-proteína específica presentes en ambas membranas capturarán el complejo conjugado de control y las líneas de control verdes siempre aparecerán. La aparición de estas líneas se utiliza: 1) para verificar que se ha añadido el volumen de muestra suficiente, 2) que el flujo ha sido apropiado y 3) como control interno de los reactivos.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

El producto debe ser almacenado entre 2 y 30°C en su envase original sellado, para conseguir un óptimo funcionamiento hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. No debe abrirse hasta el momento de su uso. No congelar.

PRECAUCIONES

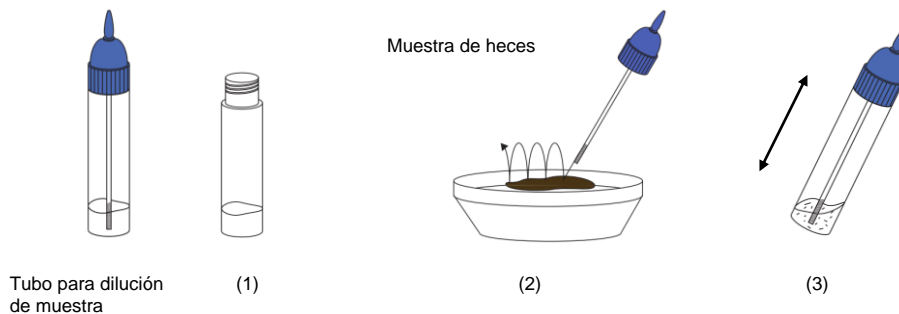
- Sólo para uso profesional *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Las muestras se deben considerar potencialmente peligrosas y deben ser manipuladas de la misma forma que a un agente infeccioso. Un nuevo test deberá utilizarse para cada muestra para evitar errores de contaminación.
- Los tests usados deben ser gestionados como residuos sanitarios (contenedor de residuos sanitarios).
- Los reactivos contienen conservantes. Debe evitarse cualquier contacto con la piel o las mucosas. Consultar fichas de seguridad, disponibles bajo petición.
- Los componentes proporcionados con el kit son aprobados para su uso con CerTest *Norovirus* GI+GII test. No se deben usar con componentes de otros kits comercializados.
- Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio, llevar ropa de protección adecuada, usar guantes desechables, gafas de protección y mascarilla. No comer, ni beber o fumar en la zona de trabajo.

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PREPARACIÓN

Las muestras deben ser recogidas en un recipiente limpio. Las muestras se pueden conservar en frío (2-8°C), durante 1-2 días, hasta el momento de utilizarlas. Para conservar las muestras durante un tiempo prolongado, como máximo 1 año, deben mantenerse congeladas a -20°C. En este caso, la muestra debe descongelarse totalmente y alcanzar la temperatura ambiente para poder utilizarla en la prueba. Homogenizar la muestra vigorosamente antes de su preparación.

Preparación de la muestra (ver dibujo):

1. Abrir el tubo para dilución de muestra (1) y con ayuda del palito tomar suficiente cantidad de muestra de las heces recogidas. Para ello se introducirá el palito una sola vez en 4 zonas distintas de la muestra (2), tomando una cantidad de heces (aprox. 125mg) y posteriormente se introducirá la muestra en el tubo para dilución de muestra. Para muestras líquidas, añadida aprox. 125µL en el tubo para dilución utilizando una micropipeta.
2. Cerrar el tubo que contiene la muestra y el diluyente. Agitarlo para facilitar la dispersión de la muestra (3).



MATERIALES

MATERIALES SUMINISTRADOS

- CerTest *Norovirus* GI+GII combo card tests
- Instrucciones de uso
- Tubos para dilución de muestra con diluyente

MATERIALES NECESARIOS NO SUMINISTRADOS

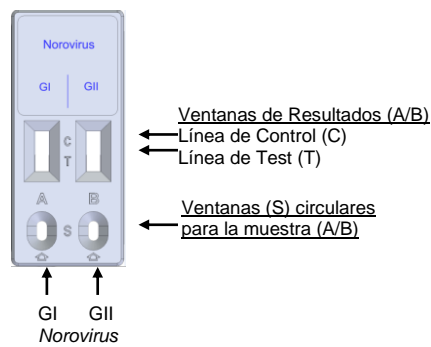
- Recipiente para recogida de muestras
- Guantes desechables
- Cronómetro

PROCEDIMIENTO

Previamente los test, las muestras de heces y los controles se deben acondicionar a la temperatura ambiente (15-30°C). No abrir los envases hasta el momento de la prueba.

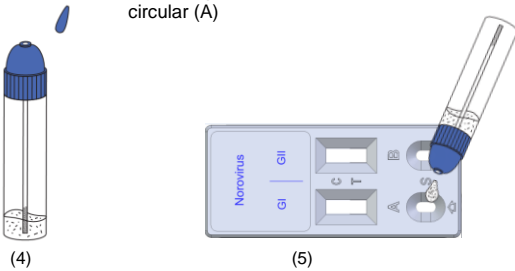
1. Agitar el tubo para dilución de muestra para asegurar una buena dispersión.
2. Sacar el test CerTest *Norovirus* GI+GII de su envase antes de utilizarlo.
3. Tomar el tubo para dilución de muestra, cortar la punta del tapón (4) y añadir 4 gotas del líquido en la ventana circular marcada con la letra A (5), y añadir 4 gotas, con el mismo tubo, en la ventana circular marcada con la letra B (6), evitando añadir partículas sólidas con el líquido.
4. **Leer el resultado a los 10 minutos.** No leer el resultado superados los 10 minutos.

Si se da el caso de que el test no funciona debido a la presencia de partículas sólidas, agitar con el palito la muestra en la ventana (S). Si no funciona, añadir una gota de diluyente hasta que se vea avanzar el líquido por la zona de resultados.



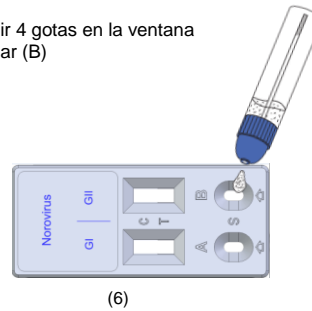
Procedimiento para la tira A de *Norovirus* GI

Añadir 4 gotas en la ventana circular (A)



Procedimiento para la tira B de *Norovirus* GII

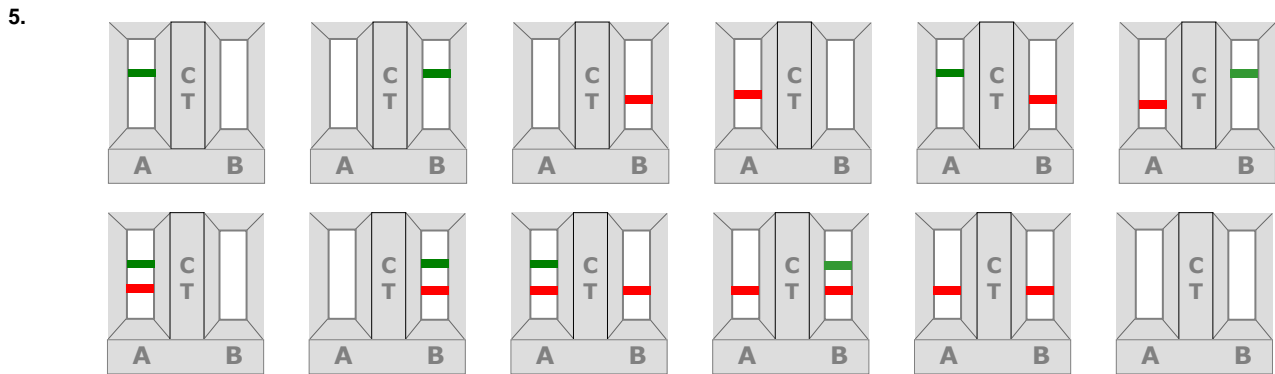
Añadir 4 gotas en la ventana circular (B)



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (por favor, fíjese en el siguiente dibujo)

- | | | | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>1.</p> <p>A: Verde → Negativo <i>Norovirus</i> GI
B: Verde → Negativo <i>Norovirus</i> GII</p> | <p>2.</p> <p>A: Verde/Rojo → Positivo <i>Norovirus</i> GI
B: Verde/Rojo → Positivo <i>Norovirus</i> GII</p> | <p>3.</p> <p>A: Verde/Rojo → Positivo <i>Norovirus</i> GI
B: Verde → Negativo <i>Norovirus</i> GII</p> | <p>4.</p> <p>A: Verde → Negativo <i>Norovirus</i> GI
B: Verde/Rojo → Positivo <i>Norovirus</i> GII</p> |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

RESULTADOS INVÁLIDOS



	A (<i>Norovirus</i> GI)	B (<i>Norovirus</i> GII)	Interpretación de los resultados
1.	- VERDE	- VERDE	No hay presencia de <i>Norovirus</i> GI o <i>Norovirus</i> GII. No hay infección causada por <i>Norovirus</i> GI ni GII.
2.	+ VERDE-ROJO	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Norovirus</i> GI y <i>Norovirus</i> GII. Hay infección causada por <i>Norovirus</i> GI y <i>Norovirus</i> GII.
3.	+ VERDE-ROJO	- VERDE	Hay presencia de <i>Norovirus</i> GI. Hay infección causada por <i>Norovirus</i> GI.
4.	- VERDE	+ VERDE-ROJO	Hay presencia de <i>Norovirus</i> GII. Hay infección causada por <i>Norovirus</i> GII.
5.	Cualquier otro resultado	Cualquier otro resultado	Cualquier resultado inválido, en A o en B, se recomienda repetir la prueba con la misma muestra y otro test.

INVÁLIDO: Cuando alguna línea de control (VERDE) no aparece, independientemente de que aparezcan o no las líneas de test (ROJA). Las causas más comunes por las que puede aparecer un resultado inválido son: un volumen insuficiente de muestra, una forma de proceder incorrecta o un deterioro de los reactivos. Si ocurriera esto, debe revisar el procedimiento y repetir la prueba con un nuevo test. Si los síntomas o la situación persisten, debe dejar de utilizar la prueba y contactar con su distribuidor.

OBSERVACIONES

La intensidad de las líneas de color rojo en la línea de test (T) en la ventana de resultados variará dependiendo de la concentración de antígenos presentes en la muestra. Sin embargo, esta prueba es cualitativa, por lo que, ni la cantidad ni la tasa de aumento de antígenos pueden ser determinados por la misma.

CONTROL DE CALIDAD

Los controles internos de funcionamiento vienen incluidos en la prueba. Las líneas verdes que aparecen en las líneas de control (C) en las ventanas de resultados son los controles internos del proceso, comprobando que el volumen de muestra es suficiente y que el procedimiento seguido ha sido el adecuado.

LIMITACIONES

- Una vez abierto, el test no debe usarse después de 2 horas.
- Un exceso de muestra de heces puede dar resultados erróneos, dando líneas no muy definidas de color pardo, que no tienen ningún valor diagnóstico. Diluir la muestra con el diluyente y repetir el test.
- La intensidad de la línea puede variar desde muy fuerte a alta concentración de *Norovirus* GI/*Norovirus* GII a débil cuando la concentración de *Norovirus* GI/*Norovirus* GII está cerca del valor del límite de detección del test.
- CerTest *Norovirus* GI+GII debería utilizarse sólo con muestras de heces humanas. El uso de otras muestras no ha sido determinado. La calidad del test depende de la calidad de la muestra; por lo que se debe realizar una adecuada toma de muestras fecales.
- Los resultados positivos determinan la presencia de *Norovirus* GI y/o *Norovirus* GII en muestras de heces; sin embargo, un resultado positivo debería ser contrastado con otras técnicas de laboratorio (métodos bioquímicos o por PCR) para confirmar los resultados. La infección debe confirmarse por un especialista o médico cualificado, tras evaluar las pruebas clínicas y los hallazgos de laboratorio teniendo en cuenta la correlación que puede existir con todas las observaciones clínicas.

6. Un resultado negativo no se debe considerar como concluyente, puede darse que la concentración de antígenos en la muestra de heces sea inferior al valor del límite de detección. Si los síntomas o la situación persisten, para la determinación de *Norovirus* se debería repetir la prueba con la muestra con otras técnicas (por ejemplo PCR).

VALORES ESPERADOS

En los últimos años, se ha incrementado la preocupación por la salud pública mundial motivada por *Norovirus* ya que presentaba una significativa morbilidad y mortalidad ocasional, que con frecuencia se presentaba en colegios, hospitales, cruceros y otras instituciones semi-cerradas. El patógeno es altamente contagioso con una dosis infecciosa baja y se propaga por la ingestión de alimentos contaminados y / o agua o la inhalación de partículas de agente por el contacto con los pacientes. Se ha deducido que aproximadamente el 90% de los brotes de gastroenteritis no bacteriana aguda en los Estados Unidos fueron causados por *Norovirus* y 23 millones de casos se vieron afectados anualmente. Además del coste humano, las infecciones por *Norovirus* causan pérdidas económicas que se acercan o superan los 650.000\$ en suministros y bajas laborales. Aunque los estudios anteriores mostraron que la enfermedad era leve y autolimitada, estudios recientes han demostrado su capacidad para causar complicaciones más graves de lo previsto.

CARACTERÍSTICAS DEL TEST

Sensibilidad analítica (límite de detección)

Los límites de detección de CerTest *Norovirus* GI+GII son 12.5ng/mL para *Norovirus* GI y 5ng/mL para *Norovirus* GII.

Sensibilidad y especificidad clínica

Se llevó a cabo una evaluación, con muestras de heces, con un test inmunocromatográfico (CerTest *Norovirus* GI+GII, CerTest) y estos resultados fueron comparados con los resultados obtenidos por un test inmunocromatográfico comercializado (Simple *Norovirus*, Operon) y confirmados por PCR. Los resultados se muestran a continuación:

Sensibilidad y especificidad clínica (Tira A)

		IC test: Simple <i>Norovirus</i>		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII (<i>Norovirus</i> GI)	+	2	0	2
	-	0	48	48
	Total	2	48	50

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII vs Simple <i>Norovirus</i>	>99%	>99%	>99%	>99%

		PCR		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII (<i>Norovirus</i> GI)	+	2	0	2
	-	0	48	48
	Total	2	48	50

CERTEST *Norovirus* GI+GII

One Step test to detect genogroup I and II *Noroviruses* in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de genogrupo I y II de *Norovirus* en formato cassette

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII vs PCR	>99%	>99%	>99%	>99%

Sensibilidad y especificidad clínica (Tira B)

		IC test: Simple <i>Norovirus</i>		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII (<i>Norovirus</i> GII)	+	10	0	10
	-	0	48	48
	Total	10	48	58

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII vs Simple <i>Norovirus</i>	>99%	>99%	>99%	>99%

		PCR		
		+	-	Total
IC test: CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII (<i>Norovirus</i> GII)	+	10	0	10
	-	2	48	50
	Total	12	48	60

	Sensibilidad	Especificidad	VPP	VPN
CerTest <i>Norovirus</i> GI+GII vs PCR	83.3%	>99%	>99%	96%

Los resultados mostraron que CerTest *Norovirus* GI+GII presenta una alta sensibilidad y especificidad para detectar *Norovirus* genogrupo I y II.

Reacciones cruzadas

Se realizó una evaluación para determinar posibles reacciones cruzadas de CerTest *Norovirus* GI+GII; no se detectó reacción cruzada con patógenos gastrointestinales ocasionalmente presentes en las heces:

<i>Adenovirus</i>	<i>Hepatitis A</i>	<i>Salmonella paratyphi</i>
<i>Astrovirus</i>	<i>Giardia lamblia</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Norovirus</i> GI (Tira B)	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Norovirus</i> GII (Tira A)	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Enterovirus</i>	<i>Rotavirus</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Escherichia coli</i> O111	<i>RSV</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>












CERTEST *Norovirus* GI+GII

*One Step test to detect genogroup I and II Noroviruses in combo card format/
Prueba combo de un solo paso para detección de genogrupo I y II de Norovirus en formato cassette*

REFERENCES/BIBLIOGRAFÍA

1. LI-JUAN LIU, et al. "Identification of Norovirus as the Top Enteric Viruses Detected in Adult Cases with Acute Gastroenteritis". *Am. J. Trop. Med, Hyg*, 82(4), 2010, p. 717-722.
2. GIUSEPPINA LA ROSA, et al. "Recreational and drinking water as a source of norovirus gastroenteritis outbreaks: a review and update". *Environmental biotechnology* 4 (1) 2008, p. 15-24.
3. THOMAS R. FRIEDEN, et al. "Emergence of new norovirus strain GII.4 Sydney-United States, 2012". *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Rep.* 2013 Jan 25;62 (3):55.

SYMBOLS FOR IVD COMPONENTS AND REAGENTS/SÍMBOLOS PARA REACTIVOS Y PRODUCTOS PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO

 IVD	<i>In vitro</i> diagnostic device Producto para diagnóstico <i>in vitro</i>		Keep dry Almacenar en lugar seco		Use by Fecha de caducidad		Manufacturer Fabricante	 LOT	Batch code Número de lote
	Consult instructions for use Consultar las instrucciones de uso		Temperature limitation Limitación de temperatura		Contains sufficient for <n> test Contiene <n> test	DIL	Sample diluent Diluyente de muestra	 REF	Catalogue number Número de referencia

