Key Code TSMX7844D
www.oxoid.com/ifu

Europe +800 135 79 135 US 1 855 2360 190
CA 1 855 805 8539 ROW +31 20 794 7071

IDEIA Norovirus

REF K604411-2 Σ 96 **CS**

Enzymová imunoanalýza určená k detekci Noroviru ve vzorcích lidské stolice.

1. POUŽITÍ

Test IDEIA™ Norovirus je kvalitativní enzymová imunoanalýza určená k detekci genoskupiny 1 a 2 norovirů v lidské stolici.

IVD - In vitro diagnostikum. Určeno pouze pro profesionální použití.

2. SOUHRN

Noroviry, původně známé jako malé viry kulovité struktury [1,2] (SRSV), jsou jednovláknové RNA viry z čeledi Caliciviridae[3].

Původně byly rozlišovány čtyři antigenní typy SRSV [4], ale v nedávné době byly za použití molekulárních technik identifikovány v rámci třídy Norovirus tři genoskupiny[5]. Genoskupiny 1 a 2 jsou spojovány s lidskými infekcemi, zatímco genoskupina 3 je spojována s infekcemi bovinními a vepřovými[6].

Noroviry jsou hlavními původci virových gastroenteritid s vysokým počtem atak u dětí a dospělých[7,8]. Velké epidemie mohou propuknout v nemocnicích[9], na výletních lodích[10], ve školách[11] a v domech s pečovatelskou službou[12]. Několik epidemií propuklo po požití kontaminované vody, jídla a zvláště měkkýšů. Epidemie s noroviry asociovanou nemocí „zimního zvracení" se mohou v ojedinělých případech objevovat v zimních měsících na západní polokouli, ale sporadické případy, epidemie z jídla a komunitní epidemie se mohou objevovat během celého roku[13].

Epidemie norovirů jsou hlášeny častěji než bakteriální gastroenteritidy[14] a mohou mít značný dopad na zdraví obyvatelstva. Infekce dětí, starších a imunokompromitovaných pacientů mohou vést k závažné dehydrataci. Epidemie v nemocnicích mohou prodloužit hospitalizaci a léčení nakažených dětí.

Laboratorní diagnostika norovirových infekcí hraje důležitou roli v péči o zdraví pacientů a obyvatelstva a zajišťuje diferenciální diagnostiku vůči jiným případům gastroenteritid. V současnosti nemůžeme norovirus snadno pěstovat na buněčných kulturách a nemůžeme jej izolovat z klinických vzorků. Elektronová mikroskopie byla v diagnostice tradičně používána jako pomocná metoda, ale je omezena na referenční centra kvůli požadavkům na vysokou odbornost a cenu. V současnosti byla popsána řada vlastních molekulárních amplifikačních metod[15], ale tyto metody nejsou dobře standardizovány a výsledky jsou ovlivněny inhibitory přítomnými ve vzorcích a typem primeru použitého v setu. Navíc tyto testy nejsou výhodné ani nákladově efektivní pro rutinní testování.

Nedávno byly vyvinuty genoskupinově a genotypově specifické protilátky[16,17], které se zdají být vhodné pro použití v rychlých enzymových imunoanalýzách[18]. Test IDEIA Norovirus využívá monoklonální a polyklonální protilátky specifické pro genoskupinu 1 a 2 v pevné fázi imunoanalýzy pro rychlou detekci genotypů norovirů.

3. PRINCIP TESTU

Test IDEIA Norovirus využívá kombinaci monoklonálních a polyklonálních protilátek specifických jak pro genoskupinu 1, tak pro genoskupinu 2 v pevné fázi sendvičové enzymové imunoanalýzy k detekci norovirů genoskupiny 1 a 2. Mikrotitrační jamky jsou potaženy směsí monoklonálních protilátek specifických pro noroviry genoskupiny 1 a 2. Do jamky se přidá suspenze stolice nebo kontrolní vzorek a inkubuje se současně se směsí specifických polyklonálních a monoklonálních protilátek proti genové skupině 1 a 2 norovirů konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Antigen noroviru přítomný ve vzorku je zachycen mezi protilátky pevné fáze a protilátky konjugované s enzymem. Po 60 minutách inkubace při pokojové teplotě se jamky opláchnou promývacím pufrem o pracovní koncentraci, aby se odstranil přebytek vzorku a jakékoli nenavázané, enzymem značené protilátky. Do mikrotitračních jamek se přidá chromogen a nechá se inkubovat po dobu 30 minut při pokojové teplotě. Přítomnost specificky navázaných, enzymem značených protilátek v mikrotitračních jamkách způsobí změnu barvy, která je zastavena přidáním kyseliny. Intenzita zbarvení významně nad hodnoty pozadí indikuje přítomnost antigenu norovirů ve vzorku nebo kontrolním vzorku. Test IDEIA Norovirus detekuje jak kmeny genoskupiny 1, tak genoskupiny 2, ale nedokáže je rozlišit.

4. DEFINICE

V informaci o výrobku byly použity následující symboly.

REF	Katalogové číslo
IVD	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Prostudujte návod k použití
	Teplotní omezení (skladovací teplota)
Σ N	Obsah postačuje pro <n> testů
LOT	Číslo šarže (č. šarže)
	Chraňte před slunečním světlem
	Přidejte vodu
	Datum ukončení použitelnosti (datum exspirace)
	Výrobce

5. DODANÁ ČINIDLA

Σ 96 – Každý kit obsahuje dostatek materiálu pro 96 přímých vzorků. - Doba použitelnosti kitu je uvedena na etiketě vnější krabice.

5.1. IDEIA NOROVIRUS OBSAHUJE

MICROTITRATION PLATE 1 mikrotitrační destičku o 96 jamkách tvořenou 12 odlamovacími stripy po 8 mikrotitračních jamkách potažených směsí specifických monoklonálních protilátek proti genoskupině 1 a 2 norovirů. Destička je dodána v uzavíratelném plastovém sáčku, který obsahuje desikační kartu pro následné uchovávání nepoužitých mikrotitračních jamek.

Po jedné lahvičce následujících činidel, pokud není uvedeno jinak:

SAMPLE DILUENT 110mL rozpouštědla vzorků. Tris pufrovaný fyziologický roztok obsahující antimikrobiální látku a červené barvivo.

CONTROL + 4 x lyofilizovanou pozitivní kontrolu: bakuloviry exprimované virové částice norovirů.

CONJUGATE 13mL konjugátu: peroxidázou značené polyklonální protilátky (králičí) a monoklonální protilátky (myší) – proti norovirům genoskupiny 1 a 2 v pufrovaném roztoku proteinů obsahujícím antimikrobiální činidlo a modré barvivo.

CONTROL DILUENT 10mL rozpouštědla kontrol: fosfátem pufrovaný fyziologický roztok obsahující antimikrobiální látku.

WASH BUFFER (X25) Promývací pufr, 25x koncentrovaný 2 x 50mL Tris pufrovaný roztok s antimikrobiální přísadou a detergentem.

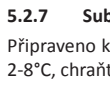
SUBSTRATE TMB 13mL substrátu: stabilizovaný peroxid 3,3'-,5,5'-tetramethylbenzidin (TMB) ve zředěném roztoku pufru. TMB bylo prohlášeno za nekarcinogenní. Přesto doporučujeme osobní ochranné pomůcky k vyloučení přímé expozice.

STOP SOLUTION 12mL zastavovacího roztoku: 0,46mol/L kyselina sírová.

Návod k použití

5.2. PŘÍPRAVA, UCHOVÁVÁNÍ A OPAKOVANÉ POUŽITÍ SOUČÁSTÍ KITU

Formát sady IDEIA Norovirus umožňuje testování až 96 vzorků. K optimálnímu fungování sady je nutné skladovat jeho nespotřebované součásti podle následujících pokynů:



5.2.1 Mikrojamky potažené protilátkou - MICROTITRATION PLATE

Obal destičky otevřete rozříznutím podél švu. Odlomte požadovaný počet mikrojamek a umístěte je do rámu. Všechny nepoužité mikrojamky a stripy vraťte do uzavíratelného sáčku s desikační kartou. Sáček pečlivě uzavřete a skladujte při teplotě 2-8°C. Mikrojamky lze užívat až 12 týdnů po prvním otevření, pokud jsou skladovány uvedeným způsobem.

5.2.2 Rozpouštědlo vzorků - SAMPLE DILUENT

Připraveno k použití. Nepoužité rozpouštědlo vzorků uchovávejte při teplotě 2-8°C.

POZNÁMKA: Rozpouštědlo vzorků je vyžadováno jako negativní kontrola a pro testování s každou šarží vzorků by ho mělo být ponecháno dostatečné množství. Když je použito pro negativní kontrolu, mělo by být rozpouštědlo vzorků rozděleno do stejných lahviček, které se používají pro přípravu rozpuštěných vzorků, aby se zajistilo, že lahvičky nebudou obsahovat žádné nežádoucí látky.

5.2.3 Pozitivní kontrola - CONTROL +

Rozpusťte požadovaný počet lyofilizovaných pozitivních kontrol v 1mL rozpouštědla kontrol. Obsah promíchejte obrácením. Nepoužitou pozitivní kontrolu uchovávejte při teplotě 2-8°C a použijte ji do jednoho měsíce. Pro dlouhodobé uchovávání použijte teplotu –20°C a skladujte v alikvótních množstvích.

5.2.4 Konjugát - CONJUGATE

Připraveno k použití. Nepoužitý konjugát uchovávejte při teplotě 2-8°C.

5.2.5 Rozpouštědlo kontrol - CONTROL DILUENT

Připraveno k použití. Nepoužité rozpouštědlo kontrol uchovávejte při teplotě 2-8°C.

5.2.6 Promývací puft - WASH BUFFER (X25)

Dodává se 25x koncentrovaný. Koncentrát promývacího pufru zředíte přidáním jednoho dílu koncentrátu ke 24 dílům čerstvé deionizované nebo destilované vody. **Pracovní koncentraci promývacího pufru připravte podle potřeby v den použití.** Nespotřebovaný koncentrát skladujte při teplotě 2-8°C.

Nepoužitý promývací pufr o pracovní koncentraci neskladujte pro další následné použití (viz oddíl 8.2.10).

5.2.7 Substrát - SUBSTRATE TMB

Připraveno k použití. Nepoužitý substrát uchovávejte při teplotě 2-8°C, chraňte před světlem.

5.2.8 Zastavovací roztok - STOP SOLUTION

Připraveno k použití. Nepoužitý zastavovací roztok uchovávejte při teplotě 2-8°C.

6. DALŠÍ ČINIDLA

6.1. ČINIDLA

Čerstvá deionizovaná nebo destilovaná voda pro přípravu promývacího pufru o pracovní koncentraci.

7. VYBAVENÍ

Budete potřebovat následující vybavení:

Nádobky vhodné pro odběr vzorků stolice.

Čisté, jednorázové, uzavíratelné nádobky opatřené závitem (o objemu min. 3mL) pro přípravu suspenzí stolice.

Čistá lahvička pro negativní kontrolu.

Čistý absorpční papír (na kterém mohou být mikrojamky vyklepány do sucha).

Přesné mikropipety a jednorázové špičky pro přenesení objemů 100µL a 1000µL (volitelné).

Odpadní nádoba s vhodným čerstvým desinfekčním prostředkem.

Automatizovaná promývačka destiček (volitelné) nebo vhodné vybavení pro promývání stripů o 8 mikrojamkách (viz oddíl 10.2.4).

POZNÁMKA: pokud v automatizované promývačce s hlavicí na 8 mikrojamek promýváte strip, který má méně než 8 mikrojamek, je potřebné doplnit strip prázdnými mikrojamkami.

Spektrofotometr nebo čtečka destiček EIA se schopností odečíst mikrotitrační destičku o 96 mikrojamkách tvořenou stripy po 8 mikrojamkách při absorbanci 450nm s referenční vlnovou délkou 620-650nm. (Volitelné, Oddíl 10.3, Odečítání výsledků testu).

Míchačka mikrotitračních destiček.

8. UPOZORNĚNÍ

8.1. BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

8.1.1 Zastavovací roztok obsahuje kyselinu sírovou (0,46mol/L). Zamezte kontaktu s kůží a sliznicemi. Pokud se přerušovací roztok dostane do kontaktu s těmito místy, ihned je omyjte vodou.

8.1.2 Ve vyhrazeném pracovním prostoru nejezte, nepijte, nekuřte, neskladujte nebo nepřipravujte jídlo a neaplikujte osobní kosmetiku.

8.1.3 Nenasávejte materiál do pipety ústy.

8.1.4 Při manipulaci s klinickými vzorky a činidly používejte jednorázové rukavice. Po ukončení práce s potenicálně infekčními materiály si vždy umyjte ruce.

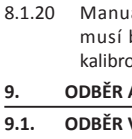
8.1.5 Se vzorky, pozitivními kontrolami a všemi materiály, které s nimi přijdou do styku, by mělo být zacházeno jako s potenciálně infekčními a stejně tak by měly být likvidovány.

8.1.6 Veškeré klinické vzorky zlikvidujte v souladu s místními předpisy.

8.1.7 Činidla IDEIA Norovirus obsahují patentovanou antimikrobiální látku, která, pokud jsou dodržena laboratorní bezpečnostní opatření, nepředstavuje žádné nebezpečí pro uživatele.

8.1.8 Promývací pufr - koncentrát obsahuje Tris-hydrochlorid což je podle předpisů Evropského společenství (EC) klasifikováno jako rizikový faktor. Následují správné formulace prohlášení ohledně Rizikových faktorů (H) a Bezpečnostních opatření (P):

VAROVÁNÍ



H315	Dráždí kůži.
H319	Způsobuje vážné podráždění očí.
P332+P313	Při podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
P305+P351 +P338	PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
P280	Používejte ochranné rukavice/ ochranný oděv/ochranné brýle/ obličejový štít.

8.1.9 TECHNICKÁ UPOZORNĚNÍ

8.1.10 Nepoužívejte součásti sady po uplynutí data expirace vytištěného na štítcích. Nemíchejte a nezaměňujte různé šarže činidel.

8.1.11 Činidla jsou dodávána v pevných koncentracích. Modifikování činidel nebo jejich uchovávání v jiných podmínkách, než je uvedeno v oddíle 5.2, bude mít dopad na funkčnost testu.

8.1.12 Zamezte kontaminaci činidel.

8.1.13 Pro každý vzorek, kontrolu nebo činidlo použijte jednorázovou pipetu nebo pipetovou špičku, abyste zabránili zkřížené kontaminaci vzorků nebo kontrol, což by mohlo zapříčinit chybné výsledky.

8.1.14 Při přidávání vzorků nebo enzymem značených protilátek do mikrotitračních jamek se vyhněte tomu, aby se špička pipety dotkla stěny mikrotitrační jamky.

8.1.15 Zamezte kontaminaci ionty kovů a oxidačními činidly.

8.1.16 Substrát vykazující modré zbarvení před přidáním do mikrojamek nepoužívejte.

8.1.17 Chraňte substrát před světlem.

8.1.18 Mikrojamky nemohou být opakovaně použity.

8.1.19 Nepoužitý promývací pufr o pracovní koncentraci neuchovávejte pro následné použití. Když nejsou nádoby na promývací pufr používány, měly by se opláchnout deionizovanou nebo destilovanou vodou a nechat uschnout.

8.1.20 Manuální nebo automatizované promývací zařízení musí být prosto mikrobiální kontaminace, správně kalibrováno a udržováno podle pokynů výrobce.

9. ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ

9.1. ODBĚR VZORKŮ

Vzorky stolice by měly být odebírány co nejdříve po nástupu příznaků.

Vrcholné vylučování norovirů do stolice pacientů s gastroenteritidou je popisováno 25-72 hodin od nástupu příznaků.

Vzorky stolice pro přímé testování sbírejte do nádob, které neobsahují média, konzervanty, zvířecí séra, kovové ionty, oxidační činidla nebo detergenty, protože všechny tyto látky mohou ovlivňovat test IDEIA Norovirus.

Před testováním mohou být vzorky uchovávány po dobu 3 dnů při teplotě 2-8°C. Pro dlouhodobé uchovávání vzorků stolice použijte teplotu –20°C.

9.2. PŘÍPRAVA VZORKŮ STOLICE

Přidejte 1mL rozpouštědla vzorků do vhodné, označené nádobky a použijte ho k přípravě 10% suspenze nebo k rozředění vzorku stolice přidáním asi 0,1g tuhé stolice (množství odpovídající malému hrášku) nebo asi 100µL tekuté stolice. Důkladně promíchejte a 10 minut před testováním nechejte usadit.

Alternativně lze po přípravě vzorků suspenzi centrifugovat po dobu 5 minut při rychlosti větší nebo rovné 5000 ot/min.

Vzorky suspendované/rozpuštěné v rozpouštědle vzorků IDEIA Norovirus mohou být uchovávány při teplotě 2-8°C po dobu až 3 dnů před testováním.

10. POSTUP TESTU

PŘED PROVÁDĚNÍM TESTU SI PROSTUDUJTE KAPITOLU 8.2 TECHNICKÉ POKYNY.

Činidla a vzorky by měly být před použitím uvedeny na pokojovou teplotu (15–30°C).

10.1. PŘÍPRAVA KONTROL

Negativní kontrola

Přidejte 1mL rozpouštědla vzorků do stejné lahvičky, jaká je použita pro ředění vzorku.

Pozitivní kontrola

Pozitivní kontrola musí být před použitím rozředěna 1mL rozpouštědla kontrol a zamíchána (viz oddíl 5.2.3).

Ke každé šarži testovaných vzorků musí být přidána nejméně jedna negativní a pozitivní kontrola IDEIA Norovirus (viz oddíl 10.2.1).

10.2. POSTUP ANALÝZY

Při použití lahviček činidla s kapátkem držte lahvičku vertikálně s kapací špičkou přibližně 5mm nad mikrotitrační jamkou. Lehce lahvičku stiskněte a ujistěte se, že kapky dopadnou volně do mikrotitrační jamky bez doteku s jejími stěnami. Zamezte kontaminaci kapacích špiček všech lahviček. Vzorky, kontroly a konjugát přidávejte pomocí mikropipety.

10.2.1 Přidání vzorku

Do držáku jamek umístěte požadovaný počet mikrotitračních jamek.

Přidejte 100µL každého zředěného vzorku stolice/supernatantu stolice, negativní kontroly nebo pozitivní kontroly do jednotlivých mikrotitračních jamek. (Do každé šarže analýz by měla být zařazena nejméně jedna negativní a jedna pozitivní kontrola.)

Zamezte rozvíření nebo odebrání sedimentu z lahvičky se vzorkem. Při rozdělování vzorků držte pipetu ve vertikální poloze se špičkou těsně nad mikrojamkou a zajistěte, aby byly vzorky přeneseny bez doteku se stěnou mikrojamky. Snažte se zkříženě nekontaminovat mikrojamky se vzorky a kontrolami, protože by to mohlo vést k chybným výsledkům.

10.2.2 Přidání konjugátu

POZNÁMKA: Pokud používáte více stripů s 8 mikrotitračními jamkami, doporučujeme použít osmicestnou pipetu.

Po přidání všech vzorků a kontrol do mikrotitračních jamek.

Přidejte 100µL konjugátu do všech mikrotitračních jamek pomocí mikropipety a jemně zamíchejte.

10.2.3 První inkubace

Inkubujte všechny mikrotitrační jamky po dobu **60 ± 5 minut** při teplotě 20-30°C.

10.2.4 Promývání mikrojamek

Mikrotitrační jamky by měly být promývány čerstvě připraveným promývacím pufrem o pracovní koncentraci (viz oddíl 5.2.6).

Technika promývání je pro výkonnost testu zásadní (viz oddíl 8.2.11) a promývání by mělo být prováděno tak, aby bylo zajištěno úplné naplnění mikrojamek (minimálně **350µL** promývacího pufru o pracovní koncentraci) a jejich vyprázdnění.

Je nezbytné provést pět promývacích cyklů, a to buď automatizovanou nebo manuální promývací technikou.

Manuální promývání

Při manuálním promývání mikrojamek odsajte nebo vytřepejte jejich obsah a zajistěte úplné naplnění a vyprázdnění mikrojamek čerstvě připraveným promývacím pufrem. Mezi jednotlivými promývacími kroky odstraňte všechen zbývající promývací pufr vyklepáním obrácených mikrodestiček na čistý absorpční papír. Účinnost manuálního promývání je dále zajištěna, pokud je promývací pufr do mikrojamek aplikován pod takovým úhlem, aby v nich vytvořil vír. Po posledním promytí by měla být mikrodestička obrácena a vyklepána na čistý absorpční papír, aby byly odstraněny poslední zbytky promývacího pufru.

Automatizované promývání

Automatizované promývačky by měly být naprogramovány na provedení 5 promývacích cyklů. Promývačky musí být správně kalibrovány, aby bylo zajištěno úplné naplnění a vyprázdnění mikrojamek mezi jednotlivými cykly promývání. Po posledním promytí by měla být mikrodestička obrácena a vyklepána na absorpční papír, aby byly odstraněny poslední zbytky promývacího pufru.

10.2.5 Přidání substrátu

Do každé mikrotitrační jamky přidejte 2 kapky (nebo 100µL) substrátu.

10.2.6 Druhá inkubace

Inkubujte při teplotě 20 - 30°C po dobu **30 minut**.

Mikrotitrační jamky mohou být **vizuálně odečteny ihned** po druhé inkubaci (viz oddíl 10.3.1).

10.2.7 Zastavení reakce

Do každé mikrotitrační jamky přidejte 2 kapky (nebo 100µL) zastavovacího roztoku.

Před odečtením výsledků zajistěte důkladné promíchání mikrotitračních jamek. Barevný produkt je stabilní po dobu až 30 minut od přidání zastavovacího roztoku.

10.3. ODEČÍTÁNÍ VÝSLEDKŮ TESTU

10.3.1 Vizuální odečítání

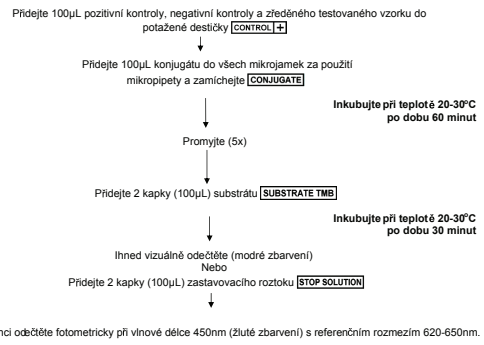
Mikrotitrační jamky mohou být vizuálně hodnoceny ihned po druhé inkubaci. Doporučujeme, aby jakékoli jamky, u kterých je intenzita zabarvení ve srovnání s negativní kontrolou těžko hodnotitelná, byly odečteny také fotometricky po přidání zastavovacího roztoku (viz oddíl 10.3.2).

10.3.2 Fotometrické odečítání

Mikrojamky by měly být fotometricky odečteny do 30 minut po přidání zastavovacího roztoku. Zamíchejte obsah mikrojamek a odečtěte absorbanci každé mikrojamky za použití vhodného spektrofotometru nebo čtečky destiček EIA při 450nm. Před odečítáním zajistěte, aby byla dna mikrojamek čistá a aby nebyl v mikrojamkách žádný cizí materiál. Čtečka by měla být před odečtením první destičky kalibrována na vzduch (tedy bez destičky v zásobníku).

Pokud spektrofotometr umožňuje použití referenční vlnové délky (620 až 650nm), mělo by být provedeno odečtení při dvojí vlnové délce, protože tímto budou vyloučeny všechny potenciální interference způsobené odchylkami, jako jsou nečistoty nebo skvrny na optickém povrchu mikrojamek.

10.4. SOUHRN POSTUPU ANALÝZY IDEIA NOROVIRUS



11. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ TESTU

11.1. NEGATIVNÍ KONTROLA

Jak je uvedeno v oddíle 10.1 (Příprava kontrol), měla by být do každé série analýz začleněna alespoň jedna negativní kontrola.

Fotometrické stanovení

Hodnota negativní kontroly nebo průměr hodnot negativních kontrol by měl být menší než 0,150 jednotek absorbance.

11.2. MEZNÍ HODNOTA

Výpočet mezní hodnoty

Mezní hodnota se vypočítá přičtením 0,1 AU k hodnotě negativní kontroly nebo k jejich průměrné hodnotě, pokud je začleněna více než jedna negativní kontrola.

Vizuální stanovení

Mikrotitrační jamky s negativní kontrolou by měly být prosty viditelného zbarvení. Pokud tomu tak není, měl by být test odečten fotometricky nebo zopakován.

11.3. POZITIVNÍ KONTROLA

Jak je uvedeno v oddíle 10.1 (Příprava kontrol), měla by být do každé série analýz začleněna alespoň jedna pozitivní kontrola.

Vizuální stanovení

Mikrotitrační jamky pozitivní kontroly by měly mít zřetelně modré zbarvení, jasně odlišitelné od negativní kontroly. Pokud tomu tak není, neměl by test být vizuálně odečítán. Výsledky by měly být odečteny fotometricky nebo by měl být test zopakován.

Fotometrické stanovení

Pozitivní kontroly musí mít hodnotu vyšší než 0,5 AU.

11.4. VZORKY

11.4.1 Vizuální stanovení

Každý vzorek, který je modře zbarvený intenzivněji než negativní kontrola, by měl být hodnocen jako pozitivní za předpokladu, že negativní kontrola je bezbarvá. Každý bezbarvý vzorek by měl být považován za negativní. Pokud je negativní kontrola jakkoliv modře zbarvená, musí být odečítána fotometricky po přidání zastavovacího roztoku nebo by měl být test zopakován.

Pokud se po přidání substrátu zbarví obsah mikrojamek tmavě modře a vytvoří se modročerný precipitát, měly by být vzorky interpretovány jako pozitivní.

11.4.2 Fotometrické stanovení

Každý vzorek s hodnotami absorbance většími, než je mezní hodnota, je pozitivní (viz oddíl 11.1). Každý vzorek s hodnotami absorbance nižšími, než je mezní hodnota, by měl být považován za negativní. Výsledek do 0,010 AU mezní hodnoty by měl být považován za neprůkazný a test by měl být zopakován nebo by měl být od pacienta odebrán nový vzorek.

12. OMEZENÍ TESTU

12.1. Negativní výsledek nevylučuje možnost infekce pacienta noroviry. Neúspěšná detekce norovirů může být způsobena faktory, jako je odběr vzorků v nevhodném období choroby, kdy je ve stolici nedostatečné množství virionů, nesprávný odběr vzorků a/nebo nesprávná manipulace se vzorky.

12.2. Test IDEIA Norovirus detekuje pro genoskupinu specifické virové proteiny přítomné u lidských genotypů norovirů genoskupiny 1 a 2. Test nemůže být použit k odlišení mezi jednotlivými serotypy norovirů.

12.3. Činidla jsou dodávána v pevných pracovních koncentracích. Modifikování činidel nebo jejich uchovávání v jiných podmínkách než uvedených v oddíle 5.2 bude mít nepříznivý dopad na funkčnost testu.

12.4. Všechny pozitivní výsledky musejí být interpretovány v souvislosti s klinickými informacemi týkajícími se pacienta. Výsledky testu interpretujte s přihlédnutím k informacím z epidemiologických studií, celkové klinické diagnóze pacienta a jiných diagnostických postupů.

12.5. Vzorky mekonia nebyly schváleny pro použití testu IDEIA Norovirus.

12.6. Test IDEIA Norovirus nebyl uznán platným pro všechny známé kmeny norovirů, proto selhání při detekci noroviru může být způsobeno antigenní různorodostí cirkulujících kmenů.

12.7. Pozitivní výsledek nevylučuje přítomnost dalších střevních patogenů. Zatímco vztah mezi norovirem a gastroenteritidou je pevně potvrzen, výskyt současné infekce jinými mikrobiálními patogeny je možný. K vyloučení dalších možných příčin nemoci by měly být provedeny paralelně s testem IDEIA Norovirus i dodatečné mikrobiologické testy.

13. OČEKÁVANÉ HODNOTY

Četnost pozitivity se může měnit v závislosti na prevalenci norovirů v různých populacích, podle cirkulujících genotypů, geografické lokalizace, metod odběru vzorků, manipulace, skladování a převozu vzorků a podle celkových zdravotních podmínek populace pacientů zahrnutých do studie.[7, 13]

Noroviry jsou běžnou příčinou komunitních epidemií gastroenteritidy, zejména v nemocnicích nebo domech s pečovatelskou službou, které jsou spojovány s více než 40% epidemií ve Velké Británii [9, 12].

Noroviry jsou často spojovány s případy nemoci „zimního zvracení".

14. SPECIFICKÉ VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

14.1. KLINICKÉ STUDIE

Aktualizovaný test IDEIA Norovirus byl hodnocen ve srovnání s předchozí verzí testu (K6043). Studie byly prováděny na vzorcích stolice odebraných v rámci Velké Británie během epidemií gastroenteritidy, u kterých se objevilo podezření, že jsou způsobeny noroviry. Všechny vzorky byly předběžně testovány pomocí PCR. Výsledky stávajících dvou analýz IDEIA Norovirus byly srovnány se známými výsledky PCR daných vzorků.

14.2. KLINICKÁ ÚČINNOST

Celkem bylo testováno 120 vzorků, přičemž 83 vzorků mělo pozitivní výsledek PCR na přítomnost norovirů a ve 37 případech byl výsledek PCR na přítomnost norovirů negativní.

Aktualizovaný test IDEIA Norovirus vykazoval ve srovnání s předchozí sadou zvýšenou senzitivitu a negativní prediktivní hodnotu (NPV) vzhledem k PCR a rovnocennou specificitu a pozitivní prediktivní hodnotu (PPV) vzhledem k PCR.

Tabulka 14.2 Výkonnost aktualizovaného testu IDEIA Norovirus (K6044) a předchozí verze testu IDEIA Norovirus (K6043) ve srovnání s PCR.

	Aktualizovaný test IDEIA Norovirus K6044	Předchozí verze testu IDEIA Norovirus K6043
Senzitivita vzhledem k PCR	72,8% (59/81)	55,4% (46/83)
Specificita vzhledem k PCR	100% (37/37)	100% (37/37)
PPV	100% (59/59)	100% (46/46)
NPV	62,7% (37/59)	51,4% (83/120)
Detekované epidemie (počet detekovaných pomocí PCR)	16 (21)	12 (21)

PPV = počet skutečně pozitivních vzorků správně identifikovaných pomocí testu

NPV = počet skutečně negativních vzorků správně identifikovaných pomocí testu

14.3. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Testem IDEIA Norovirus byly vyšetřeny a prokázány za negativní následující mikroorganizmy. Testy na zkříženou reaktivitu byly prováděny jak na klinických vzorcích, u kterých byla přítomnost mikrobů stanovena, tak na laboratorních kulturách známých mikroorganizmů obsahujících asi 10^7-10^8 životaschopných organizmů na mL. Odkaz na seznam mikroorganizmů najdete v klíči níže:

Viry

Adenovirus[a]
Astrovirus[a]
Rotavirus[a]

Bakterie

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
Peptococcus sp
Peptostreptococcus sp
Proteus 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]

Další mikroorganismy

Candida albicans[b]

Klíč:

[a] Mikroorganizmy přítomné a testované ve stolici

[b] Mikroorganizmy testované ve stolici i v bujónu

Všechny ostatní mikroorganizmy byly testovány v bujónových bakteriálních kulturách

15. ODKAZY/REFERENZEN

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 Calicivirdae; 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; 874:438–42.
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 **-1660** (10):
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.

CE

IFU X7844D Revideredе Smět 2021

OXOID Limited, Wade Road, Basingstoke, Hampshire, RG24 8PW, UK

Se všemi dotazy prosím kontaktujte svou místní svého distributora