

USO DE LA PRUEBA

La prueba rápida de Norovirus en casete (Heces) es un inmunoensayo cromatográfico rápido para la detección cualitativa de Norovirus en muestras de heces humanas para ayudar en el diagnóstico de la infección por norovirus.

PRINCIPIO DE LA PRUEBA

La prueba rápida de Norovirus en casete (Heces) es un inmunoensayo cualitativo de flujo lateral para la detección de Norovirus en muestras de heces humanas.

El ensayo utiliza anticuerpos monoclonales específicos Genogrupo 1 y Genogrupo 2 recubiertos en la membrana de ensayo. Durante las pruebas, la muestra de heces reacciona con los anticuerpos conjugados. La mezcla migra hacia arriba sobre la membrana cromatográficamente por acción capilar para reaccionar con los anticuerpos Genogrupo 1 y 2 en la membrana y genera una línea de color a nivel de la zona T1 y T2 respectivamente. La presencia de una línea de color en la región T1 indica un resultado positivo para Genogrupo 1 y en la región T2 para Genogrupo 2 respectivamente, mientras que su ausencia indica un resultado negativo. Para servir como un control de procedimiento, siempre aparecerá una línea de color en la zona de reacción de control (C) que indica que se ha añadido el volumen adecuado de la muestra y se ha producido la absorción de membranas.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

Los Norovirus (NoV) son un grupo genéticamente diverso de ARN monocatenario, los virus no envueltos pertenecientes a la familia Calciviridae. Durante décadas se les llamó "pequeños virus de estructura redonda" (SRSV) o "virus Norwalk-like", hasta hace poco, cuando su taxonomía se investigó utilizando modernas técnicas moleculares. Se reconocen inicialmente cuatro tipos antigénicos de SRSV, pero más recientemente tres genogrupos se han identificado con el género *Norovirus*. Genogrupo 1 y 2 genogrupo están asociados con infecciones humanas, mientras que genogrupo 3 está asociada con la infección bovina y porcina.

Los norovirus son la causa principal de gastroenteritis aguda en todo el mundo, a menudo causando brotes explosivos en las instituciones. Son altamente contagiosa, con un inóculo de tan sólo diez partículas que son capaces de causar la infección. La transmisión se produce a través de la ingestión de alimentos y agua contaminados y por transmisión de persona a persona. La transmisión es predominantemente fecal-oral, pero puede estar en el aire debido a la aerosolización del vómito, que normalmente contiene partículas de virus infecciosos abundantes. Los brotes pueden implicar varias vías de transmisión. La enfermedad es aguda, generalmente leve, aunque ha causado muertes entre los ancianos débiles, y autolimitadas y sigue un período de incubación de 24-48 horas, aunque los casos pueden ocurrir dentro de las 12 horas de exposición. La capacidad de los norovirus para causar brotes en instituciones se ha convertido en un importante problema de salud pública. Los brotes de infección por norovirus se pueden asociar a restaurantes e instituciones tan diversas como hogares de ancianos, hospitales y campos deportivos. Las infecciones en los recién nacidos, pacientes ancianos o frágiles pueden ser fatales si no se tratan.

Los síntomas de la enfermedad norovirus generalmente incluyen náuseas, vómitos, diarrea y calambres de estómago. Algunas veces las personas tienen un bajo grado de fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, dolores musculares y una sensación general de cansancio. La enfermedad a menudo comienza de forma repentina, y la persona infectada puede sentirse muy mal. En la mayoría de las personas la enfermedad es autolimitada con síntomas que duran alrededor de 1 o 2 días. En general, los niños experimentan más vómitos que los adultos.

PRESENTACION

1. Caja con 10 pruebas empacadas individualmente con desecante de sílica.
2. 10 Tubos colectores con buffer.
3. Instructivo de uso.

ALMACENAJE Y ESTABILIDAD

Almacene la prueba a 2-30°C. Debe evitarse la congelación.

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Sólo para uso diagnóstico *in vitro* profesional. No usar después de la fecha de caducidad.
- No coma, beba ni fume en la zona donde se manipulan las muestras o kits.
- No utilice la prueba si el sobre está dañado.
- Manipule todas las muestras como si contuvieran agentes infecciosos. Observar las precauciones establecidas contra los peligros microbiológicos a lo largo de todos los procedimientos y seguir los procedimientos estándar para la eliminación adecuada de las muestras.
- Use ropa protectora como bata de laboratorio, guantes desechables y protección para los ojos cuando se analicen muestras.
- La prueba utilizada debe desecharse de acuerdo con las regulaciones locales.
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados.

RECOLECCIÓN Y MANEJO DE LA MUESTRA

1. Para recoger muestras fecales:

Recolectar suficiente cantidad de heces (1-2 ml o 1-2g) en un recipiente de recolección de muestras limpio y seco para obtener suficientes partículas de virus. Se obtendrán mejores resultados si el ensayo se realiza dentro de las 6 horas posteriores a la recogida. Las muestras recogidas pueden almacenarse durante 3 días a 2-8°C si no se prueban en un plazo de 6 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse por debajo de -20°C.

Procedimiento de preparación para muestras:

2. Para procesar muestras fecales:

Para muestras sólidas:

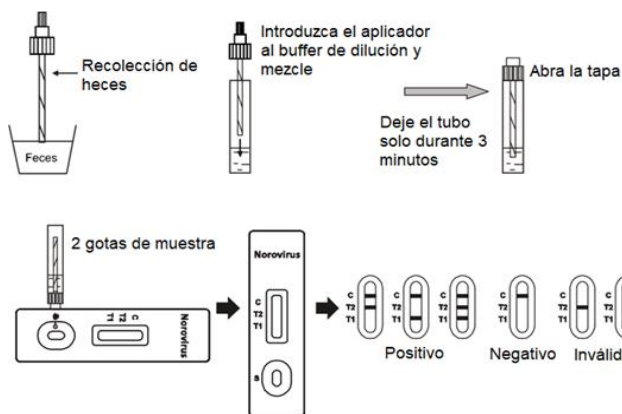
Desenrosque la tapa del tubo colector de muestras, en seguida introduzca el aplicador de forma aleatoria en la muestra fecal en al menos 3 sitios diferentes para recolectar aproximadamente 50 mg de heces (equivalente a 1/4 de un chícharo). No seque la muestra fecal.

Para muestras líquidas:

Sostenga la pipeta verticalmente, aspire la muestra fecal y luego transfiera 2 gotas del líquido de muestra (aproximadamente 50 µL) en el tubo colector de muestras con buffer.

Presione la tapa sobre el tubo colector de muestras con buffer, en seguida agite vigorosamente para mezclar la muestra y el buffer. Deje el tubo colector reaccionar la mezcla durante 2 minutos.

3. Lleve la bolsa a temperatura ambiente antes de abrirla. Retire el casete de prueba del sobre de aluminio y utilícelo lo antes posible. El mejor resultado se obtendrá si la prueba se realiza inmediatamente después de abrir el sobre de aluminio.
4. Sostenga el tubo colector de muestras en posición vertical y desenrosque la punta del tubo colector de muestras. Invertir el tubo colector de muestras y transfiera 2 gotas completas de la muestra extraída (aproximadamente 80 µL) al pozo de muestra (S) del casete de prueba, en seguida inicie el temporizador. Evite atrapar burbujas de aire en la muestra (S). Vea la ilustración a continuación.
5. Lea los resultados a los 15 minutos después de dispensar la muestra. No lea los resultados después de 20 minutos.



Nota: Si la muestra no migra (presencia de partículas), centrifugue la muestra diluida contenida en el vial del buffer de extracción. Recoja 80 µL de sobrenadante, dispense en el pocillo de la muestra (S). Inicie el temporizador y continúe desde el paso 5 en adelante en las instrucciones de uso anteriores.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

T1 POSITIVO:* Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) Genogrupo 1 (T1).

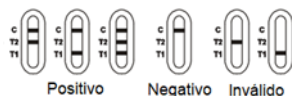
T2 POSITIVO:* Aparecen dos líneas de colores distintos. Una línea de color debe estar en la región de la línea de control (C) y otra línea de color aparente debe estar en la región Genogrupo 2 (T2).

T1 y T2 POSITIVO:* Aparecen tres líneas de colores distintas. Una línea de color debe estar en la región de control (C) y dos líneas de color en la región Genogrupo 1 (T1) y la región genogrupo 2 (T2). Un resultado positivo en la región de Genogrupo 1 y la región de Genogrupo 2 indica que el antígeno Genogrupo 1 y el antígeno Genogrupo 2 se detectaron en la muestra.

***NOTA:** La intensidad del color en la región de la línea de ensayo (T) variará dependiendo de la concentración de antígeno norovirus presente en la muestra. Por lo tanto, cualquier tono de color en la región de la línea de prueba (T) debe considerarse positivo.

NEGATIVO: Aparece una línea de color en la región de la línea de control (C). No aparece ninguna línea en la región de la línea de prueba (T).

INVÁLIDO: La línea de control (C) no puede aparecer. El volumen insuficiente de la muestra o las técnicas de procedimiento incorrectas son las razones más probables para el fallo de la línea de control. Revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de prueba. Si el problema persiste, deje de utilizar el kit de prueba inmediatamente y póngase en contacto con su distribuidor local.



CONTROL DE CALIDAD

Los controles de procedimiento internos se incluyen en la prueba. Una línea de color que aparece en la región de control (C) es un control de procedimiento válido interno. Confirma suficiente volumen de muestras y técnica de procedimiento correcta.

Las normas de control no se suministran con este kit; sin embargo, se recomienda que los controles positivos y negativos se prueben como una buena práctica de laboratorio para confirmar el procedimiento de prueba y verificar el rendimiento adecuado de la prueba.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. Esta prueba debe utilizarse únicamente para la detección de antígenos norovirus en heces humanas.
2. El casete de prueba rápida de Norovirus sólo indica la presencia de antígeno norovirus en la muestra y no debe utilizarse como único criterio para el diagnóstico de la infección por norovirus.
3. La muestra de heces de un bebé menor de un año de edad puede producir un resultado falso positivo.
4. Al igual que con todas las pruebas diagnósticas, el resultado debe considerarse junto con otra información clínica disponible para el médico.
5. Si el resultado de la prueba es negativo y los síntomas clínicos persisten, se sugiere una prueba de seguimiento adicional utilizando otros métodos clínicos. Un resultado negativo en cualquier momento no excluye la posibilidad de infección por Norovirus.

REFERENCIAS

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