

Willi Fox

Test de norovirus

Test de selles

Mode d'emploi (IFU)

Test rapide pour la détection de norovirus dans les selles humaines

1. Champ d'application

Le test rapide de norovirus *Willi Fox* GGI + GGII est un immunodosage pour la détection qualitative rapide de norovirus dans les selles humaines. Ce test sert d'aide au diagnostic d'une infection aux norovirus.

Les **norovirus** font partie de la famille des Caliciviridae. Ils englobent un groupe de virus à RNA monocaténaire très hétérogènes. Les norovirus sont classés dans cinq génogroupes (GG). Parmi ces groupes, seulement trois (GGI, GGII et GGIV) sont pathogènes pour l'homme. Les norovirus qui sont isolés en cas de gastroentérite aiguë font partie de deux génogroupes:

Le génogroupe GGII (en particulier le génotype GII.4) est responsable de la plupart des infections aux norovirus. Les virus Bristol, Lordsdale, Toronto, Mexico, Hawaii et Snow Mountain en font partie.

Les virus Norwalk, Desert Shield et Southampton font partie du génotype GGI.

Les norovirus sont la cause principale dans le monde pour les épidémies non-bactérielles de gastroentérite chez les enfants et les adultes. Ils sont la deuxième cause virale de diarrhées sporadiques dans toutes les catégories d'âge.

Les infections virales sont un danger spécialement pour les enfants/adolescents, les personnes âgées et les patients au faible système immunitaire.

Après un temps d'incubation de 10 heures jusqu'à 3 jours, la manifestation clinique est la diarrhée qui dure de 12 à 60 heures. Des symptômes comme des maux de ventre, des nausées et des vomissements accompagnent souvent la maladie. Des symptômes moins fréquents sont des maux de tête, une température élevée, des douleurs musculaires ou de la fatigue. Les agents pathogènes se transmettent de personne en personne par voie oro-fécale ou par les vomissements. La transmission se fait également par les aliments et l'eau.

Schema épidémiologique d'irruptions possibles de norovirus:

Symptômes:

Symptômes principaux	Symptômes secondaires possibles
Diarrhées et / ou vomissements	Crampes d'estomac Nausées Douleurs musculaires Maux de tête Fièvre basse (très rare)

Caractéristiques épidémiologiques:

Pas d'agent pathogène bactérien ou parasite détecté	
Temps d'incubation:	En moyenne 1-2 jours (12-48h)
Durée de la maladie:	En moyenne 2-3 jours (12-72h), parfois plus long
Vomissements:	explosifs, non contrôlables (chez plus de 50% des patients)
Proportion de vomissements/diarrhées:	Plus d'adolescents (<20 ans) avec vomissements qu'avec diarrhée Plus d'adultes (>20 ans) avec diarrhée qu'avec vomissements
Proportion de vomissements/fièvre:	Plus de patients avec vomissements qu'avec fièvre
Cas secondaires:	Caractéristiques
Personnel soignant:	Grande fréquence de tomber malade

Quelle BAG Nov.2015

Pendant longtemps, les norovirus ont été diagnostiqués par microscope électronique. Plus récemment, ils sont diagnostiqués par transcriptase inverse / réaction en chaîne par polymérase (RT-PCR), ce qui augmente la sensibilité de détection. La RT-PCR est devenue la méthode standard pour détecter les norovirus, mais c'est une méthode chère et longue qui a besoin de personnel qualifié et du matériel complexe qui n'est pas forcément toujours présent dans la plupart des laboratoires et hôpitaux. La spécificité clinique de la RT-PCR est souvent mauvaise, car la PCR

peut démontrer des dépôts de norovirus asymptomatiques 28 jours après l'infection. Les échantillons de sérum ne peuvent pas être conseillés pour un diagnostic de routine en laboratoire. Pour des études spéciales, des échantillons de sérum aigus en période de convalescence peuvent être récoltés et testés aux norovirus en cherchant une multiplication de plus de quatre fois du titre igG.

Sur le marché se trouvent à présent une série de tests commerciaux immunoassay (EIA) et de kits de tests immunochromatographiques. Ils sont simples et rapides et peuvent être un grand avantage surtout dans des cas d'épidémie. Cette méthode s'est donc révélée un très bon complément aux méthodes RT-PCR.

2. Résumé du principe du test

Le test de norovirus GGI + GGII **Willi Fox** est un test rapide pour la détection qualitative et la différenciation de norovirus GI et GII dans les selles humaines par interprétation visuelle de couleurs dans la bande interne du test.

Le test détecte les norovirus à l'aide d'anticorps spécifiques. Il n'y a pas de réaction croisée connue avec la flore normale ou des pathogènes de l'estomac.

Après avoir donné l'échantillon (selles diluées dans un liquide-tampon) sur la cassette de test, des anticorps marqués d'une couleur (conjugué d'or) se lient spécifiquement au virus recherché quand il se trouve dans l'échantillon. Les complexes virus-anticorps migrent le long de la membrane par capillarité. Ils sont alors interceptés sur la zone de test correspondante à l'aide d'autres anticorps spécifiques aux norovirus GGI + GGII.

Si les antigènes viraux recherchés sont présents dans l'échantillon, une ou deux lignes rouges apparaissent dans la région-test GGI et / ou GGII.

Si aucun virus n'est présent dans les selles, les anticorps colorés ne peuvent pas se lier dans les zones de test. Aucune ligne rouge n'apparaît. Une bande verte dans la région de contrôle sert de contrôle de fonction. Celle-ci indique que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a complètement été imbibée du fluide.

3. Contenu du test

- | | |
|--|--|
| • Cassettes (sous feuilles plastiques thermosoudées) et déshydratant | <i>Notez que le déshydratant contenu dans chaque sachet n'entre pas dans l'exécution du test et doit être éliminé!</i> |
| • Pipettes | Pour récolte d'échantillon |
| • Tubes pour l'échantillon avec liquide-tampon | Pour récolte d'échantillon |
| • Collecteur (papier) de selles | Pour récolte d'échantillon |
| • Mode d'emploi pour récolte d'échantillon | Pour récolte d'échantillon |
| • Mode d'emploi | |

4. Matériel supplémentaire (non livré)

- Chronomètre
- Papier absorbant pour éviter de répandre du liquide
- Gants à usage unique

5. Stockage

- Les tests **Willi Fox** – Norovirus GGI et GGII (les sachets non ouverts) et les réactifs peuvent être stockés à température ambiante ou au réfrigérateur (2-30°C) jusqu'à la date de péremption.
- Ne pas congeler!
- Prenez soigneusement garde à ne pas contaminer les composantes individuelles du test lors de l'emploi. La contamination biologique des composantes individuelles, comme les pipettes capillaires ou les réactifs, peut falsifier le résultat.

6. Remarques importantes

- *Le test **Willi Fox** – Norovirus est prévu uniquement pour diagnostic in vitro*
- *Destiné exclusivement au personnel qualifié.*
- *N'employez pas le test après échéance de la date de péremption.*
- *N'utilisez pas le test si l'emballage de feuille de protection est endommagé.*
- *N'utilisez pas le liquide-tampon s'il a changé de couleur ou n'est pas clair. Cela peut être signe d'une infection aux microbes.*
- *A usage unique.*
- *Lisez précisément le mode d'emploi avant l'utilisation du test.*
- *Ce kit contient des produits d'origine animale. Les connaissances certifiées de l'origine et/ou de l'état sanitaire des animaux ne garantissent pas totalement l'absence d'agents pathogènes transmissibles. Il est donc recommandé de considérer ces produits comme potentiellement infectieux et de les traiter selon les consignes de sécurité habituelles (par exemple, éviter l'ingestion ou l'inhalation).*
- *La solution-tampon contient de l'azoture de sodium, qui peut former des azotures de métal éventuellement explosifs en réaction avec du plomb ou du cuivre. Rincez toujours soigneusement avec beaucoup d'eau quand vous éliminez le liquide-tampon au-dessus d'un écoulement, pour éviter une formation d'azoture.*

- *Les normes standard relatives à l'utilisation et à la manipulation de matériel infectieux et de réactifs chimiques sont à observer. Evitez tout contact par le port de gants, protection oculaire et vêtements appropriés.*
- *Il faut éliminer tous les déchets contaminés, comme les cassettes de test, ou le tube pour l'échantillon, conformément aux règles.*
- *Evitez de mélanger ou contaminer les échantillons, cela pourrait fausser les résultats.*
- *Utilisez un nouvel échantillon s'il y a un risque que l'échantillon utilisé soit mal marqué, contaminé ou abîmé.*
- *Pour éviter la formation de condensation, ne retirez la cassette du sachet d'aluminium qu'immédiatement avant l'exécution du test.*
- *Faites attention à la période d'évaluation indiquée.*
- *L'humidité et la chaleur peuvent compromettre les résultats du test.*

7. Prélèvement et traitement de l'échantillon

Principes de base:

- Le test **Willi Fox** – Norovirus GI et GII est conçu uniquement pour une utilisation avec des selles humaines.
- La détection du virus réussit au mieux lorsque l'échantillon a été recueilli (maximum 3 jours) juste après l'apparition des symptômes de la maladie.
- **L'élimination maximale des norovirus** se fait **le 3ème** jour après l'apparition des symptômes de la maladie.
- Lorsque les échantillons sont recueillis longtemps après l'apparition de la diarrhée, il est possible que la quantité d'antigènes ne soit pas suffisante pour une réaction positive ou que des antigènes sans rapport avec la diarrhée soient détectés.
- Les échantillons de selles doivent être immédiatement testés. Ne les laissez pas reposer à température ambiante.
- Les selles doivent être conservées à 2-8°C immédiatement après leur collecte et analysées dans les 72 h.
- Les échantillons de selles peuvent être congelées et stockées à - 20°C.
- Les échantillons ayant été réfrigérés devront tous être amenés à température ambiante (15-30°C) avant l'emploi.
- Il est déconseillé de décongeler et recongeler un échantillon, cela peut fausser les résultats.

Recueil et préparation de l'échantillon:

Pour le recueil de l'échantillon, le patient reçoit un tube collecteur, un collecteur d'échantillon et une pipette à usage unique.

Le patient doit absolument recueillir les selles de la manière suivante:

- Pour des échantillons de selles solides, le collecteur de selles livré peut être utilisé.
- Pour des échantillons de selles liquides, n'importe quel récipient propre et sec peut être utilisé pour recueillir l'échantillon.
- S'assurer que les selles n'entrent pas en contact avec l'eau de la cuvette des toilettes afin d'éviter une dilution des selles ou leur contamination par des produits d'entretien.
- 1-2 ml (échantillon liquide) ou 50 mg de selles suffisent.

Pour des selles solides :

- Collectez un échantillon arbitraire à l'aide du collecteur de selles livré.



- Dévissez le couvercle du tube collecteur. Faites attention à ne pas répandre de liquide du tube.



- Piquez les selles en trois endroits différents avec la spirale et recueillez ainsi environ 50 mg de selles (cela correspond à 1/4 d'un petit pois).



- Remettez la spirale dans le tube et refermez bien celui-ci.



- Secouez le tube collecteur pour que les selles et le tampon se mélangent bien. Attention: ne pas casser le bout du tube.

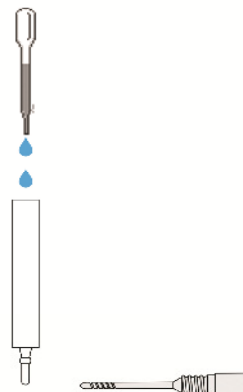


- Fermez le tube dans le sachet et remettez-le au médecin.
- L'échantillon est maintenant prêt à être examiné, stocké ou transporté.
- L'échantillon doit être examiné le plus vite possible, au plus tard en **l'espace d'une heure**.
- L'échantillon préparé, dilué dans la solution-tampon du tube, peut être congelé à -20°C et stocké pendant 6 mois.

Pour des selles liquides:

Si les selles sont trop fluides pour rester collées à la spirale, utilisez la pipette à usage unique fournie.

- Maintenez la pipette à la verticale, aspirez un peu de selles et transférez deux gouttes (environ 80-100 µl) dans le tube collecteur avec la solution-tampon.



- Remettez la spirale dans le tube et refermez bien celui-ci.



- Secouez le tube collecteur pour que les selles et le tampon se mélangent bien. Attention: ne pas casser le bout du tube.



8. Exécution et interprétation du test

Les échantillons, réactifs ou cassettes de test ayant été réfrigérés devront tous être amenés à température ambiante (15-30°C) avant l'emploi.

Ne pas ouvrir des tests réfrigérés, pour éviter une condensation sur la membrane du test.

1. Inscrire l'identification du patient

Inscrire l'identification du patient sur la cassette ou le tube de prélèvement et poser sur une surface propre et horizontale.

2. Bien secouer le tube collecteur

Pour garantir un mélange parfait des selles et de la solution tampon.



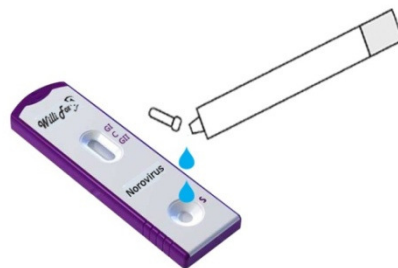
3. Dévisser le tube collecteur à l'autre bout (bouchon blanc)

Prenez du papier, brisez avec précaution la pointe du tube.

Tenez le tube verticalement vers le bas et pipetez 2 **gouttes** (ca. 80-100 µl) dans l'ouverture ronde de la cassette.

Évitez la formation de bulles d'air dans le puits de dépôt et les éclaboussures dans la fenêtre de résultat rectangulaire.

Lancez le chronométrage.



Remarque: Si l'échantillon dans la cassette n'est pas fluide (p.ex. il y a des particules), centrifugez l'échantillon qui se trouve dans le tube. Prenez ensuite 2 gouttes (80 - 100 µl) de la partie liquide de l'échantillon et donnez celles-ci dans l'ouverture (S) de la cassette. Suivez ensuite les instructions ci-dessus encore une fois.

4. Lisez le résultat après 10 minutes.

Des résultats fortement positifs peuvent être interprétés plus tôt.

Ne dépassez pas 20 minutes pour interpréter le résultat !

Relevez le résultat avant l'expiration d'un délai de 20 minutes!

Interprétation du test

Résultat positif Norovirus GI:

Une ligne rouge (GI) et une ligne verte apparaissent dans la fenêtre de test.

Une ligne de test (GI) qui donne le résultat du test et une ligne de contrôle (C) qui confirme le déroulement correct du test.

Attention: L'intensité de couleur des lignes de test (GI/GII) et proportionnelle à la concentration de norovirus GGI et GGII dans l'échantillon. Les lignes de test peuvent donc varier entre le rose et le rouge. Chaque variation de couleur doit être interprétée comme positive.



Résultat positif Norovirus GII:

Une ligne rouge (GII) et une ligne verte apparaissent dans la fenêtre de test.

Une ligne de test (GII) qui donne le résultat du test et une ligne de contrôle (C) qui confirme le déroulement correct du test.



Résultat positif Norovirus GI et GII:

Deux lignes rouges (GI et GII) et une ligne verte apparaissent dans la fenêtre de test:

Deux lignes de test (GI + GII) qui donnent le résultat du test et une ligne de contrôle (C) qui confirme le déroulement correct du test.





Résultat négatif:

Une ligne verte apparaît dans la région de contrôle C.

Das vollständige **Fehlen von roten Linien** in der Testregion (T) bedeutet ein negatives Ergebnis.

Dans la zone de test, aucune ligne rouge n'apparaît. C'est un résultat négatif.



Résultat non valable:

Aucune ligne verte n'apparaît dans la zone de contrôle C.

Si **aucune ligne** n'apparaît dans la région de contrôle (C), le test n'est **pas valable**.

La cause peut être un volume d'échantillon insuffisant ou une exécution incorrecte du test. Dans ce cas, répétez le test avec une nouvelle cassette.

Si ce problème se répète, le kit de test ne doit pas être réutilisé. Veuillez prendre contact avec le fabricant **Willi Fox**.

9. Contrôle de qualité

Contrôle interne: L'apparition d'une ligne dans la zone de contrôle C prouve que le test a été effectué selon les règles.

Contrôle externe: Il est conseillé de pratiquer des contrôles de qualité selon les normes GLP afin d'assurer une qualité constante du procédé. Des contrôles, internes et externes, permettent de mettre en évidence soit des réactifs défectueux soit des erreurs d'exécution du test.

10. Champ d'application et limites du test

- Le test **Willi Fox** – Norovirus est conçu pour une utilisation diagnostique *in vitro* par des professionnels et doit être uniquement utilisé pour une détection qualitative de rotavirus et d'adénovirus.
L'intensité de couleur de la ligne ne doit pas conduire à une interprétation.
- Comme pour tout test rapide, le résultat de test ne doit pas être le seul fondement d'un diagnostic, il doit être évalué par un médecin avec l'appui de toutes les connaissances cliniques et données d'analyses et éventuellement confirmé par d'autres analyses.
- Si les symptômes cliniques ne disparaissent pas en présence d'un résultat négatif, il faut employer d'autres méthodes cliniques pour vérifier ce dernier. Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection à norovirus.
- Un effet « Hook » peut survenir quand l'intensité de couleur de la ligne diminue avec une concentration plus forte d'antigènes. Si cet effet est soupçonné, le fait de diluer l'échantillon peut monter l'intensité de couleur de la ligne.

11. Caractéristiques du test

A. Spécificité et sensibilité analytiques

Le test **Willi Fox** - Norovirus GGI et GGII a été comparé dans une étude avec un autre test immunochromatographique à norovirus antigène GGI / GGII trouvé dans le commerce avec le même échantillon.

En tout 398 échantillons ont été comparés.

Les résultats sont les suivants:

	Test de référence	Willi Fox – test rapide norovirus	
		Positif	Négatif
Positif	145	142	3
Négatif	253	1	252
Résultats au total:	398	143	255

Sensibilité relative: >99,9% (97,5% - 100%)

Spécificité relative: 99,4% (96,6% - 99.9%)

Concordance totale: 99,7% (98,2% - 99.9%)

B. Réaction croisée









La réaction croisée des organismes suivants a été testée à une concentration de $1,0 \times 10^9$ organismes/mL avec le test rapide **Willi Fox** – Norovirus GI + GII et a conduit à un résultat négatif:

<i>Salmonella spp</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Neisseria gonorrhoea</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Campylobacter spp</i>	Group B Streptococcus
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Escherichia coli (E.coli)</i>	<i>Shigella spp</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Rotavirus</i>	
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Adenovirus</i>	
Group C Streptococcus	<i>Neisseria meningitidis</i>	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Candida albicans</i>	

12. Littérature

- González GG, Liprandi F, Ludert JE (2006) Evaluation of a commercial enzyme immunoassay for the detection of norovirus antigen in fecal samples from children with sporadic acute gastroenteritis. *J Virol Methods* 136:289–291.
- Schmid M, Oehme R, Schallasta G, Brockmann S, Kimmig P, Enders G (2004) Fast detection of noroviruses using a real-time PCR assay and automated sample preparation. *BMC Infect Dis* 4:1–8.
- Glass RI, Parashar UD, Estes MK. Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med* 2009;29:1776–85.
- Department of Health and Ageing Norovirus laboratory case definition.
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2011) Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR* 03:1–15.
- De Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MPG (2006) Diagnosis of norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *J Virol Methods* 137:259–264.
- Barreira DM, Ferreira MS, Fumian TM, Checon R, de Sadovsky AD, Leite JP, et al. Viral load and genotypes of noroviruses in symptomatic and asymptomatic children in Southeastern Brazil. *J Clin Virol* 2009;47:60–4.
- Khamrin P, Nguyen TA, Phan TG, Satou K, Masuoka Y, Okitsu S, Maneeekarn N, Nishio O, Ushijima H (2008) Evaluation of immunochromatography and commercial enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of norovirus antigen in stool samples. *J Virol Methods* 147:360–363.
- De Bruin E, Duizer E, Vennema H, Koopmans MPG (2006) Diagnosis of norovirus outbreaks by commercial ELISA or RT-PCR. *J Virol Methods* 137:259–264.

13. Explication des symboles

	Référence article		Usage unique
	Numéro de lot		Date de péremption
	Conserver entre		Contenu
	Usage in vitro		Mode d'emploi



Les tests *Willi Fox* – Norovirus sont produits en Suisse et distribués par :

Willi Fox GmbH
CH - 4001 Basel
Tel. +41 (0)61 534 74 65
Fax +41 (0)61 535 14 80
willifox@willifox.com

www.willifox.com