

## RIDA® GENE Norovirus I & II

**REF** PG1415



## 1. Zweckbestimmung

Für die *in-vitro* Diagnostik. RIDA®GENE Norovirus I & II ist eine multiplex real-time RT-PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von Noroviren der Genogruppen I und II aus humanen Stuhlproben.<sup>1,2</sup>

Die RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR soll die Diagnose einer durch Noroviren verursachten Gastroenteritis unterstützen.

## 2. Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Noroviren verursachen mit Abstand die meisten Fälle aller nicht bakteriellen Gastroenteritis-Ausbrüche.<sup>3,4,5</sup> Eine durch Noroviren verursachte Gastroenteritis äußert sich durch starke Übelkeit, heftiges Erbrechen und schweren Durchfall. Noroviren werden sowohl mit dem Stuhl als auch mit dem Erbrochenen ausgeschieden. Eine aerogene Übertragung durch Bildung virushaltiger Aerosole ist häufig die Ursache einer sehr raschen Ausbreitung in Gemeinschaftseinrichtungen.<sup>6,7,8</sup> Das Center for Disease Control (CDC, Atlanta, USA) schätzt, dass jedes Jahr in den USA durch Noroviren über 21 Millionen Fälle von akuter Gastroenteritis, 70.000 Krankenhausaufenthalte und 800 Todesfälle verursacht werden.<sup>9</sup>

Noroviren gehören zur Familie der *Caliciviridae*. Aufgrund ihrer Morphologie (small round structured virus (SRSV)) lassen sie sich von den klassischen Caliciviren unterscheiden. Die SRSV wurden nach dem Ort ihrer Isolierung benannt. So stand der Name Norwalk-like für alle Viren, die bei Gastroenteritis-Ausbrüchen isoliert wurden und ging auf die Erstisolierung in der Stadt Norwalk im Bundesstaat Ohio in den USA im Jahre 1972 zurück. Weitere Isolate, wie Snow Mountain, Hawaii, Montgomery County, etc. folgten.

Noroviren sind kleine, unbehüllte Viren mit einer einzelsträngigen RNA (ssRNA). Sie lassen sich in 7 Genogruppen mit derzeit über 30 verschiedenen Genotypen und einer Vielzahl von Stämmen unterteilen. Als humanpathogen sind bisher nur Vertreter aus der Genogruppe I (GGI) mit 9 Genotypen, aus der Genogruppe II (GGII) mit 22 Genotypen und aus der Genogruppe IV (GGIV) mit 2 Genotypen beschrieben.<sup>10,11</sup>

## 3. Testprinzip

Die RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR ist eine molekular-diagnostische PCR zum direkten qualitativen Nachweis und zur Differenzierung von Norovirus Genogruppe GGI RNA und Norovirus Genogruppe GGII RNA in humanen Stuhlproben. Der Nachweis erfolgt im One-Step real-time RT-PCR Format, d.h. die reverse Transkription (RT) und die anschließende PCR finden in einem Reaktionsgefäß statt. Die isolierte RNA wird dabei mit Hilfe einer Reversen Transkriptase in cDNA umgeschrieben. Die für Norovirus GGI und GGII spezifischen Genfragmente werden anschließend mittels real-time PCR amplifiziert.

Die amplifizierten Zielsequenzen (ORF1/ORF2 junction Region) werden mit Hydrolyse-Sonden, die an einem Ende mit dem Quencher und am anderen Ende mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff (Fluorophor) markiert sind, nachgewiesen. In Gegenwart einer Zielsequenz hybridisieren die Sonden mit den Amplikons. Während der Extension trennt die **Taq-Polymerase** den Reporter vom Quencher. Der Reporter emittiert ein Fluoreszenzsignal, das durch die optische Einheit eines real-time PCR-Gerätes detektiert wird. Das Fluoreszenzsignal steigt mit der Menge der gebildeten Amplikons an. Der RIDA®GENE Norovirus I & II Test enthält eine **Internal Control RNA** (ICR), um die Probenpräparation und/oder eine potentielle PCR Inhibition kontrollieren zu können.

#### 4. Packungsinhalt

**Tab. 1:** Packungsinhalt (Die Reagenzien einer Packung reichen für 100 Bestimmungen)

Kit Code	Reagenz	Menge		Deckelfarbe
1	Reaction Mix	2x	1050 µl	gelb
2	Enzyme Mix	1x	80 µl	rot
R	Internal Control RNA	2x	1700 µl	braun
N	No Template Control	1x	450 µl	weiß
P	Positive Control	1x	200 µl	blau

#### 5. Reagenzien und ihre Lagerung

- Alle Reagenzien müssen lichtgeschützt bei -20 °C gelagert werden und können bis zum aufgedruckten Verfallsdatum verwendet werden. Nach Erreichen des Verfallsdatums kann keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden.
- Vor dem Gebrauch sollten die Reagenzien schonend aufgetaut werden (z.B. im Kühlschrank bei 2 - 8 °C).
- Ein wiederholtes Einfrieren/Auftauen bis zu 20 Mal beeinträchtigt die Testeigenschaften nicht (ggf. Aliquots nach dem ersten Auftauen herstellen und die Reagenzien sofort wieder einfrieren).
- Alle Reagenzien während der PCR-Vorbereitung geeignet kühlen (2 - 8 °C).

## 6. Zusätzlich benötigte Reagenzien – erforderliches Zubehör

Der RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR Test ist geeignet für die Verwendung mit folgenden Extraktionsplattformen und real-time PCR-Geräten:

**Tab. 2:** Benötigtes Zubehör

Extraktionsplattformen	
R-Biopharm	RIDA® Xtract
Promega	Maxwell® RSC
bioMérieux	NucliSENS® easyMAG®
Roche	MagNA Pure
Real-time PCR-Geräte	
Roche	LightCycler® 480II
Agilent Technologies	Mx3005P
Applied Biosystems	ABI 7500
Bio-Rad	CFX96™
QIAGEN	Rotor-Gene Q

**Hinweis: Bei Verwendung des Rotor-Gene Q (QIAGEN) nur 0,1 ml Reaktionsgefäße verwenden**

Sollten Sie weitere Extraktionsverfahren oder real-time PCR-Geräte verwenden wollen, kontaktieren Sie bitte R-Biopharm zur Überprüfung der Kompatibilität unter [mdx@r-biopharm.de](mailto:mdx@r-biopharm.de).

- RIDA®GENE Color Compensation Kit IV (PG0004) bei Verwendung des LightCycler® 480II
- Real-time PCR Verbrauchsmaterialien (Platten, Reaktionsgefäße, Folien)
- Zentrifuge mit Rotor für Reaktionsgefäße oder Platten
- Vortexer
- Pipetten (0,5 – 20 µl, 20 – 200 µl, 100 – 1000 µl)
- Pipettenspitzen mit Filtern
- Puderfreie Einmalhandschuhe
- PCR-Wasser (BioScience-Grade, Nuklease-frei)

## 7. Vorsichtsmaßnahmen

Nur für die *in-vitro* Diagnostik.

- Dieser Test ist nur von geschultem Laborpersonal durchzuführen. Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten.
- Die Gebrauchsanweisung zur Durchführung des Tests ist strikt einzuhalten.
- Proben oder Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren. Kontakt mit verletzter Haut oder Schleimhäuten vermeiden.
- Während des Umgangs mit Reagenzien und Proben, persönliche Schutzausrüstung (geeignetes Handschuhmaterial, Kittel, Schutzbrille) tragen und nach Abschluss des Tests die Hände waschen.
- In Bereichen, in denen mit Proben gearbeitet wird, nicht rauchen, essen oder trinken.
- Eine räumliche Trennung von Extraktion, PCR-Ansatz und PCR ist zu beachten, um Querkontaminationen zu vermeiden.
- Klinische Proben müssen als potentiell infektiös angesehen werden und müssen, wie sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potentiell infektiösen Proben zusammenkommen, entsprechend entsorgt werden.
- Testkit nach Erreichen des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Alle Reagenzien und Materialien müssen nach Gebrauch sachgerecht und eigenverantwortlich entsorgt werden. Bitte beachten Sie bei der Entsorgung die jeweils national geltenden Vorschriften.

Weitere Details siehe Safety Data Sheets (SDS) unter [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 8. Sammlung und Lagerung der Proben

### 8.1 RNA-Präparation aus Stuhlproben

Für die RNA-Isolierung aus Stuhlproben wird ein kommerziell erhältliches RNA-Extraktionskit (z.B. RIDA® Xtract (R-Biopharm)) oder RNA-Extraktionssystem (z.B. Maxwell® RSC (Promega)) für Stuhlproben empfohlen. Die Angaben des Herstellers sind zu beachten.

Es wird empfohlen die Stuhlproben vor der Extraktion 1:10 mit PCR-Wasser zu verdünnen, stark zu vortexen und 1 min bei 13.000 x g zu zentrifugieren. Aus dem Überstand das entsprechende Volumen nach Angaben des Herstellers verwenden.

Der RIDA®GENE Norovirus I & II Test enthält eine **Internal Control RNA**, die eine mögliche PCR-Inhibition anzeigt, die Integrität der Reagenzien überprüft und eine erfolgreiche Nukleinsäureextraktion bestätigt. Die **Internal Control RNA** kann entweder nur als Inhibitionskontrolle oder als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und Inhibitionskontrolle verwendet werden.

Wird die **Internal Control RNA** nur als Inhibitionskontrolle verwendet, muss 1 µl der **Internal Control RNA** dem Master-Mix hinzugefügt werden (s. Tab. 4).

Wird die **Internal Control RNA** als Extraktionskontrolle für die Probenpräparation **und** als Inhibitionskontrolle verwendet, müssen 20 µl der **Internal Control RNA** während der Extraktion eingesetzt werden. Die **Internal Control RNA** soll dem Proben-Lysispuffer Mix und **nicht** direkt dem Probenmaterial zugefügt werden. Wir empfehlen je 1 µl der **Internal Control RNA** zum PCR-Mix der Negativkontrolle und der Positivkontrolle zu pipettieren.

## 9. Testdurchführung

### 9.1 Herstellung des Master-Mix

Die Gesamtzahl der für die PCR benötigten Reaktionen (Proben und Kontrollreaktionen) ist zu berechnen. Bei jedem Testlauf muss eine Positivkontrolle und eine Negativkontrolle mitgeführt werden.

Es wird empfohlen den Master-Mix mit 10 % zusätzlichem Volumen anzusetzen, um einen Pipettierverlust auszugleichen (s. Tab. 3, Tab. 4). Vor der Benutzung den **Reaction Mix**, den **Enzyme Mix**, die **Positive Control**, die **No Template Control** und die **Internal Control RNA** auftauen, durchmischen und kurz zentrifugieren. Reagenzien während der Arbeitsschritte stets geeignet kühlen (2 - 8 °C).

**Tab. 3:** Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICR als Extraktions- und Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Enzyme-Mix</b>	0,7 µl	7,7 µl
	<b>Gesamt</b>	<b>20 µl</b>	<b>220 µl</b>

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren.

**Tab. 4:** Beispiel für die Berechnung und Herstellung des Master-Mix für 10 Reaktionen (ICR nur als Inhibitionskontrolle)

Kit Code	Komponenten des Master-Mix	Menge pro Reaktion	10 Reaktionen (zusätzlich 10 %)
1	<b>Reaction Mix</b>	19,3 µl	212,3 µl
2	<b>Enzyme-Mix</b>	0,7 µl	7,7 µl
R	<b>Internal Control RNA</b>	1,0 µl	11 µl
	<b>Gesamt</b>	<b>21,0 µl</b>	<b>231,0 µl</b>

Master-Mix mischen und anschließend kurz zentrifugieren

## 9.2 Herstellung des RT-PCR-Mix

Je 20 µl des Master-Mix in die jeweiligen Reaktionsgefäße (Gefäße/Platten) pipettieren.

**Negativkontrolle:** Je 5 µl **No Template Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

**Hinweis:** Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control RNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control RNA zum RT-PCR-Mix der Negativkontrolle zu pipettieren.**

**Proben:** Je 5 µl RNA-Extrakt zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

**Positivkontrolle:** Je 5 µl **Positive Control** zum vorgelegten Master-Mix pipettieren.

**Hinweis:** Wir empfehlen bei Verwendung der **Internal Control RNA** als **Extraktionskontrolle für die Probenpräparation und als Inhibitionskontrolle je 1 µl der Internal Control RNA zum RT-PCR-Mix der Positivkontrolle zu pipettieren.**

Reaktionsgefäße bzw. Platte verschließen, mit wenigen Umdrehungen pro Minute kurz zentrifugieren und in das real-time PCR-Gerät überführen. Die RT-PCR entsprechend der Geräteeinstellung starten (s. Tab. 5, Tab. 6).

## 9.3 Geräteeinstellungen

### 9.3.1 Universal real-time RT-PCR-Profil

**Tab. 5:** Universal real-time RT-PCR-Profil für LightCycler® Serie

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	10 sec, 95 °C
Annealing/Extension	15 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

**Hinweis:** Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

**Tab. 6:** Universal real-time RT-PCR-Profil für Mx3005P, ABI 7500, Rotor-Gene Q, CFX96™

<u>Reverse Transkription</u>	10 min, 58 °C
Initiale Denaturierung	1 min, 95 °C
Zyklen	45 Zyklen
<u>PCR</u> Denaturierung	15 sec, 95 °C
Annealing/Extension	30 sec, 60 °C
Temperature Transition Rate / Ramp Rate	Maximum

**Hinweis:** Das Annealing und die Extension finden im selben Schritt statt.

**Hinweis:** Das Universal real-time PCR Profil kann auch für DNA Tests verwendet werden, wenn RIDA®GENE DNA und RIDA®GENE RNA real-time PCR Tests in einem Lauf kombiniert werden.



## 9.4 Detektionskanaleinstellung

Tab. 7: Auswahl der geeigneten Detektionskanäle

Real-time PCR-Gerät	Nachweis	Detektionskanal	Bemerkung
Roche LightCycler® 480II	Norovirus GGII	465/510	<b>RIDA® GENE Color Compensation IV (PG0004) wird benötigt</b>
	ICR	533/580	
	Norovirus GGI	618/660	
ABI7500	Norovirus GGII	FAM	<b>Stellen Sie den passiven Referenzfarbstoff ROX auf none</b>
	ICR	VIC	
	Norovirus GGI	Cy5	
Agilent Techn. Mx3005P	Norovirus GGII	FAM	<b>Stellen Sie den Referenzfarbstoff auf none</b>
	ICR	HEX	
	Norovirus GGI	Cy5	
Qiagen Rotor-Gene Q	Norovirus GGII	Green	<b>Die Gain-Einstellungen müssen für alle Kanäle auf 5 eingestellt sein</b>
	ICR	Yellow	
	Norovirus GGI	Red	
Bio-Rad CFX96™	Norovirus GGII	FAM	-
	ICR	VIC	
	Norovirus GGI	Cy5	

## 10. Qualitätskontrolle

Die Auswertung der Proben erfolgt über die Analyse-Software des jeweiligen real-time PCR-Gerätes nach den Angaben des Herstellers. Negativkontrolle und Positivkontrolle müssen die korrekten Ergebnisse zeigen (s. Tab. 8, Abb. 1, Abb. 2)

Die **Positive Control** liegt in einer Konzentration von  $10^3$  Kopien/ $\mu$ l vor. Sie wird in einer Gesamtmenge von  $5 \times 10^3$  Kopien in jedem PCR Lauf eingesetzt.

**Tab. 8:** Ein valider PCR-Lauf muss die folgenden Bedingungen erfüllen:

Probe	Ergebnis	ICR Ct	Zielgen Ct
Positivkontrolle	Positiv	NA *1	Siehe Quality Assurance Certificate
Negativkontrolle	Negativ	Ct > 20	0

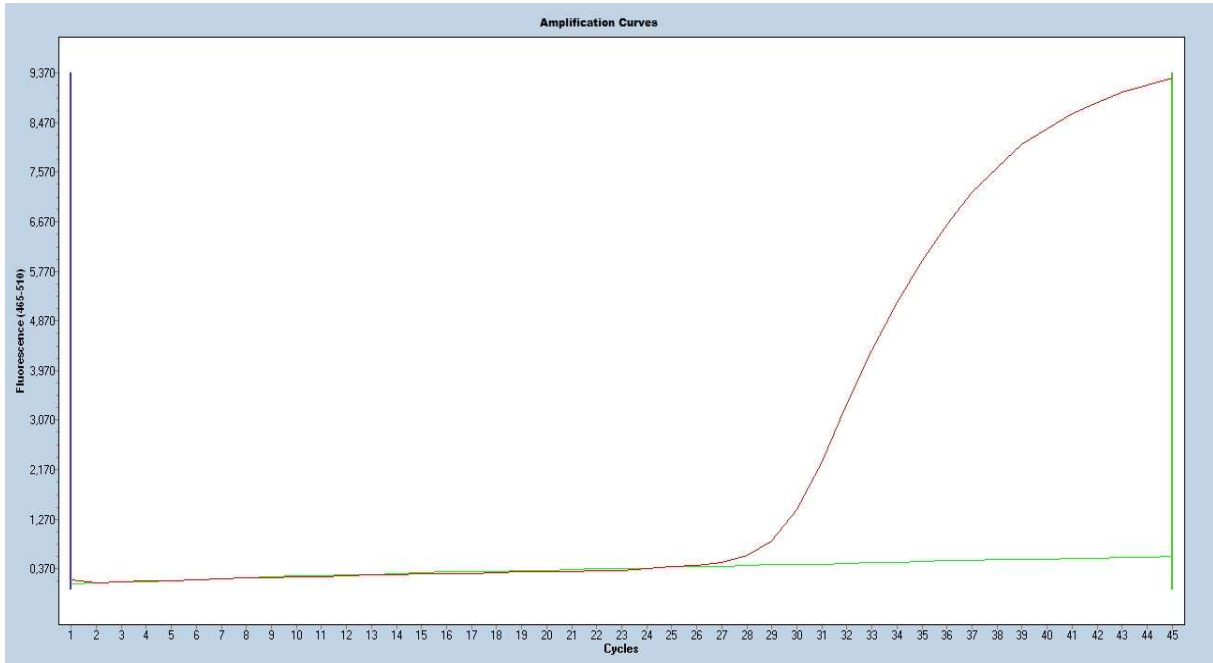
*\*1 Ein Ct-Wert für die ICR ist nicht erforderlich um ein positives Ergebnis der Positivkontrolle zu erhalten.*

Wenn die Positivkontrolle in dem angegebenen Ct-Bereich nicht positiv ist, die Negativkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

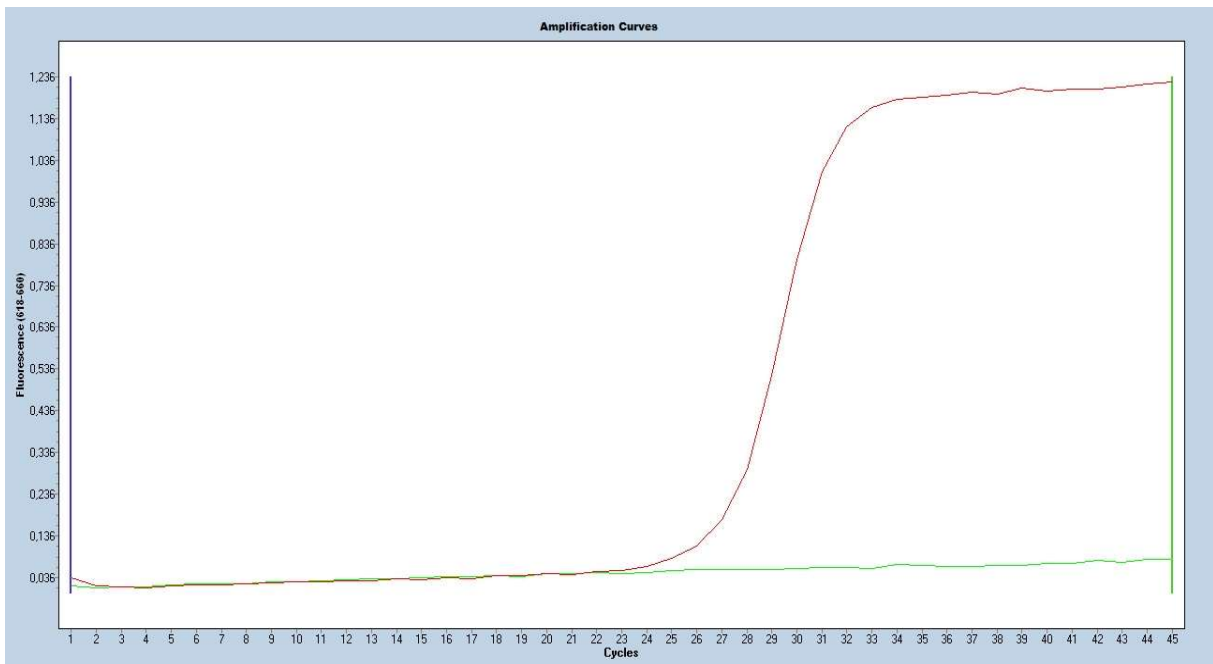
Wenn die Negativkontrolle nicht negativ ist, die Positivkontrolle jedoch valide ist, müssen alle Reaktionen inklusive der Kontrollen neu angesetzt werden.

Sollten die vorgegebenen Werte nicht erfüllt sein, ist vor einer Testwiederholung folgendes zu überprüfen:

- Haltbarkeit der verwendeten Reagenzien
- Funktionsfähigkeit der eingesetzten Geräte
- Korrekte Testdurchführung



**Abb. 1:** Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (Norovirus GGII) auf dem LightCycler® 480II



**Abb. 2:** Korrekter Verlauf der Positivkontrolle und Negativkontrolle (Norovirus GGI) auf dem LightCycler® 480II

## 11. Interpretation der Ergebnisse

Die Probenauswertung der Ergebnisse erfolgt nach Tabelle 9.

**Tab. 9:** Interpretation der Ergebnisse

Nachweis		ICR	Ergebnis
Norovirus GGII	Norovirus GGI		
positiv	negativ	negativ/positiv	Norovirus GGII nachweisbar
negativ	positiv	negativ/positiv	Norovirus GGI nachweisbar
positiv	positiv	negativ/positiv	Norovirus GGII und Norovirus GGI nachweisbar
negativ	negativ	positiv	Zielgene sind nicht nachweisbar
negativ	negativ	negativ	Ungültig

Eine Probe wird positiv bewertet, wenn die Proben-RNA eine Amplifikation zeigt und eine Amplifikation für die Internal Control RNA im Nachweissystem zu sehen ist.

Eine Probe wird ebenfalls positiv bewertet, wenn die Proben-RNA eine Amplifikation, jedoch keine Amplifikation für die Internal Control RNA im Nachweissystem zeigt. Der Nachweis der Internal Control RNA ist in diesem Fall nicht notwendig, da hohe Konzentrationen des Amplikons zu einem schwachen oder fehlenden Signal der Internal Control RNA führen können.

Eine Probe wird negativ bewertet, wenn die Proben-RNA keine Amplifikation, aber die Internal Control RNA eine Amplifikation im Nachweissystem zeigt. Eine Inhibierung der PCR-Reaktion kann durch die Detektion der Internal Control RNA ausgeschlossen werden.

Eine Probe ist ungültig, wenn die Proben-RNA für Norovirus und die Internal Control RNA keine Amplifikation im Nachweissystem zeigt. In der Probe sind PCR-Inhibitoren vorhanden bzw. es trat ein Fehler im Extraktionsverfahren auf. Die extrahierte Probe sollte 1:10 mit PCR-Wasser verdünnt und erneut amplifiziert werden oder es sollte die Isolierung und Reinigung der Probe verbessert werden.

## 12. Grenzen der Methode

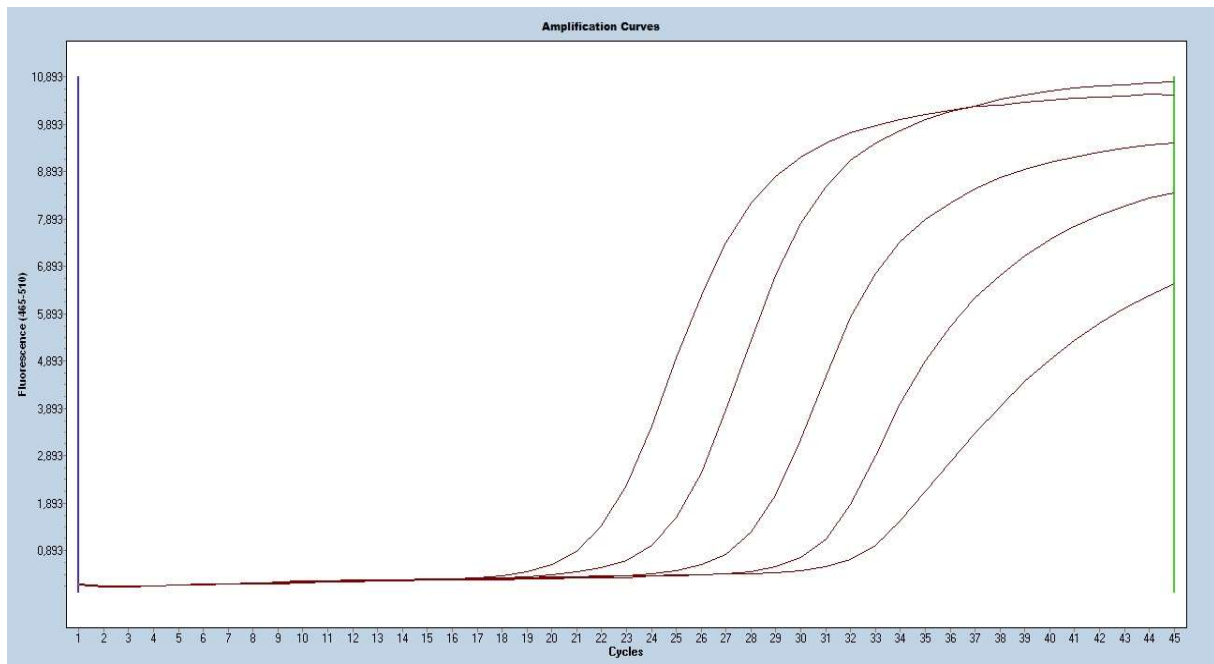
1. Das Ergebnis der molekularbiologischen Untersuchung sollte nicht allein zur Diagnose führen, sondern immer im Zusammenhang mit der Anamnese und Symptomatik des Patienten betrachtet werden.
2. Dieser Test ist nur für Stuhlproben validiert.
3. Unsachgemäße Probenentnahme, -transport, -lagerung und -handhabung oder eine Viruslast unterhalb der analytischen Sensitivität des Tests können zu falsch negativen Ergebnissen führen.
4. Die Anwesenheit von PCR-Inhibitoren kann zu nicht auswertbaren Ergebnissen führen.
5. Mutationen oder Polymorphismen in den Primer- oder Sondenbindungsregionen können den Nachweis neuer Norovirus Genotypen beeinträchtigen und mit RIDA<sup>®</sup>GENE Norovirus I & II zu falsch negativen Ergebnissen führen.
6. Wie bei allen auf PCR basierenden *in-vitro* diagnostischen Tests können äußerst niedrige Konzentrationen der Zielsequenzen, die unter dem Detektionslimit (LoD) liegen, nachgewiesen werden. Die erhaltenen Ergebnisse sind nicht immer reproduzierbar.
7. Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit lebensfähiger Organismen an. Ein positives Ergebnis deutet darauf hin, dass die Zielgene (ORF1/ORF2 junction Region) vorhanden sind.
8. Noroviren der Genogruppe IV, die in sehr seltenen Fällen auch Menschen infizieren können (s. Tab. 11), werden ebenfalls mit RIDA<sup>®</sup>GENE Norovirus I & II nachgewiesen.

## 13. Leistungsmerkmale

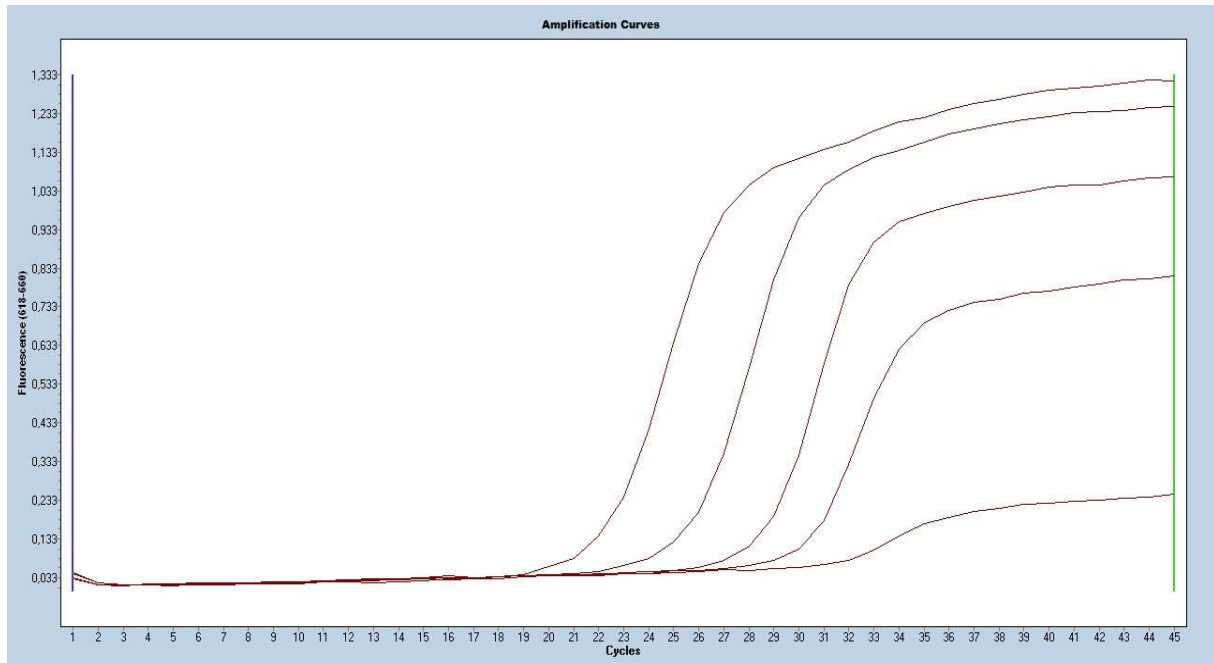
### 13.1 Analytische Sensitivität

Die RIDA<sup>®</sup>GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR hat eine Nachweisgrenze von  $\geq 50$  RNA-Kopien / Reaktion.

Die folgenden Abbildungen 3 und 4 zeigen eine Verdünnungsreihe jeweils von Norovirus GGI und GGII ( $5 \times 10^5 - 5 \times 10^1$  RNA Kopien/ $\mu$ l) auf dem LightCycler<sup>®</sup> 480II.



**Abb. 3:** Verdünnungsreihe Norovirus GGII ( $5 \times 10^5 - 5 \times 10^1$  RNA Kopien/ $\mu$ l) auf dem LightCycler<sup>®</sup> 480II



**Abb. 4:** Verdünnungsreihe Norovirus GGI ( $5 \times 10^5$  -  $5 \times 10^1$  RNA Kopien/ $\mu$ l) auf dem LightCycler® 480II

Die Nachweisgrenze des Gesamtverfahrens ist abhängig von Probenmatrix, RNA-Extraktion und RNA-Gehalt.

## 13.2 Analytische Spezifität

Die RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR ist spezifisch für Noroviren der Genogruppen I und II aus humanen Stuhlproben. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten zu den folgenden Spezies festgestellt (s. Tab. 10).

**Tab. 10:** Kreuzreaktivitätstestung

Adenovirus	-	<i>Candida albicans</i>	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	<i>Citrobacter freundii</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	<i>Clostridium difficile</i>	-	Rotavirus	-
Astrovirus	-	<i>Clostridium perfringens</i>	-	<i>Salmonella enteritidis</i>	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	<i>Clostridium sordellii</i>	-	<i>Salmonella typhimurium</i>	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	<i>E. coli</i> (O6)	-	<i>Serratia liquefaciens</i>	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	<i>Shigella flexneri</i>	-
<i>Campylobacter fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	-	<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
<i>Campylobacter lari</i> subsp. <i>lari</i>	-	<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Yersinia enterocolitica</i>	-



### 13.3 Analytische Reaktivität

Die Reaktivität der RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR wurde mit verschiedenen Genotypen der Norovirus Genogruppe I, II und IV untersucht (s. Tab. 11). Alle Norovirus Genotypen des Probenpanels wurden mit der RIDA®GENE Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR nachgewiesen.

**Tab. 11:** Analytische Reaktivitätstestung










Norovirus Genogruppe I					
GGI.1 – Norwalk	+	GGI.3 – Desert Shield, Birmingham	+	GGI.6 – Hesse	+
GGI.2 – Southampton, Whiterose	+	GGI.4 – Chiba, Malta	+	GGI.7 – Winchester	+
GGI.2 – Southampton, Southampton	+	GGI.5 – Musgrove	+	GGI.8 – Boxer	+
Norovirus Genogruppe II					
GGII.1 – Hawaii	+	GGII.4 – Sydney 2012	+	GGII.10 – Erfurt	+
GGII.2 – Melksham	+	GGII.6 – Seacroft	+	GGII.b – Hilversum	+
GGII.3 – Toronto	+	GGII.7 – Leeds	+	GII.c – Den Haag	+
GGII.4 – Bristol, Grimsby 2004	+				
Norovirus Genogruppe IV					
GGIV.1 – Alpatron	+				

## 14. Versionsübersicht

Versionsnummer	Kapitel und Bezeichnung
2018-07-07	Vorversion
2021-01-28	Generelle Überarbeitung 14. Versionsübersicht 15. Symbolerklärung

## 15. Symbolerklärung

### Allgemeine Symbole

	<i>In-vitro</i> Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten
	Chargennummer
	verwendbar bis
	Lagertemperatur
	Artikelnummer
	Anzahl Tests
	Herstelldatum
	Hersteller

### Testspezifische Symbole

Reaction Mix

Enzyme-Mix

Internal Control RNA

No Template Control

Positive Control

## 16. Literatur

1. Hoehne M and Schreier E. Detection of Norovirus genogroup I and II by multiplex real-time RT-PCR using a 3'-minor groove binder-DNA probe. *BMC Infect Dis.* 2006; 6:69-75.
2. Dreier J, *et al.* Enhanced Reverse Transcription-PCR Assay for Detection of Norovirus Genogroup I. *J Clin Microbiol* 2006; 44(8):2714-2720.
3. Mead PS, *et al.* Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis* 1999; 5:607-625.
4. Glass RJ, *et al.* The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics. *J Infect Dis* 2000; 181(Suppl 2):S254-261.
5. Evan HS, General outbreaks of infectious intestinal disease in England and Wales: 1995 and 1996. *Commun Dis Public Health* 1:165-171.
6. Johnston CP, *et al.* Outbreak management and implications of a nosocomial Norovirus outbreak. *CID* 2007; 45:534-540.
7. Corwin AL, *et al.* Shipboard impact of a probable Norwalk virus outbreak from coastal Japan. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61(6):898-903.
8. Kaplan JE, *et al.* An outbreak of acute nonbacterial gastroenteritis in a nursing home: demonstration of person-to-person transmission by temporal clustering of cases. *Am J Epidemiol* 1982; 116:940-948.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Norovirus: Overview 2012.
10. Parra GI, *et al.* Static and Evolving Norovirus Genotypes: Implications for Epidemiology and Immunity. *PLoS Pathog* 2017; 13(1): e1006136.
11. Vinjé J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J. Clin. Microbiol* 2015;53(2):373-81