

## RIDA® UNITY Norovirus I & II

**REF** UN1415



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstrasse 17, 64297 Darmstadt, Германия

+49 (0) 61 51 81 02-0 / +49 (0) 61 51 81 02-20 / [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)



## 1. Предназначение

За *in vitro* диагностична употреба. Тестът RIDA®UNITY Norovirus I & II, извършван на платформата RIDA®UNITY, е мултиплексен RT-PCR в реално време за директното качествено откриване и диференциация на РНК на норовирусна геногрупа I (GI) и II (GII) в необработени човешки проби от изпражнения от хора с признаци и симптоми на остър гастроентерит.

Тестът RIDA®UNITY Norovirus I & II е предназначен да подкрепи диференциална диагноза на инфекции от норовирусна геногрупа I (GI) и II (GII) при пациенти със симптоми на гастроентерит във връзка с други клинични и лабораторни находки.

Отрицателните резултати не изключват норовирусна инфекция и не трябва да се използват като единствена основа за диагноза.

Продуктът е предназначен за професионална употреба.

## 2. Резюме и обяснение на теста

Норовирусите са една от най-честите в света причини за небактериален гастроентерит при хора от всички възрастови групи и водят до около 70 000 до 200 000 смъртни случая всяка година.<sup>(1)</sup> Те са отговорни за около 20 % от всички случаи на остър гастроентерит в световен мащаб. Човешките норовируси, по-рано наричани Norwalk вируси, са идентифицирани за първи път през 1972 г. в проби от изпражнения, събрани по време на огнище на гастроентерит в Norwalk, Охайо, САЩ, което ги прави първите вирусни патогени, за които е доказано, че причиняват гастроентерит.<sup>(2)</sup>

Норовирусите принадлежат към семейството на *Caliciviridae* и са малки вируси без обвивка с едноверижна РНК (ssRNA). Въз основа на генетичните последователности на вирусна РНК-зависима РНК полимераза и капсидния протеин норовирусите са разделени на 10 геногрупи (GI до GX) към момента с повече от 49 различни генотипа (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI и по 1 генотип за GVII, GVIII, GIX [преди GII.15] и GX) и различни щамове. Геногрупите I, II, а понякога и IV, са най-важните от гледна точка на човешката патогенност.<sup>(1)</sup> В Съединените щати повече от 99 % от всички огнища на норовирус са причинени от GI и GII вируси.<sup>(3)</sup> Гастроентеритът, дължащ се на норовируси, често се причинява от наличието на вириони в изпражненията и повръщаното, като са необходими само 10 инфекциозни частици, за да причинят заболяване. Високата стабилност към заобикалящата среда и ниската инфекциозна доза допринасят за високата трансмисивност на норовируса.<sup>(4)</sup> Типичните симптоми на норовирусните инфекции са диария, повръщане и гадене.<sup>(3)</sup>

### 3. Принцип на теста

Мултиплексният RT-PCR в реално време RIDA®UNITY Norovirus I & II е молекулярен диагностичен PCR за директното качествено откриване и диференциация на РНК на норовирусна геногрупа I (GI) и РНК на норовирусна геногрупа II (GII) и GIV в човешки проби от изпражнения. Обработването е напълно автоматизирано със системата RIDA®UNITY. Първо, нуклеиновите киселини се екстрахират чрез използване на RIDA®UNITY Universal Extraction Kit и Internal Control Kit. Целевата последователност се открива в едноетапен формат RT-PCR в реално време, тоест обратната транскрипция (RT) и последващата PCR се извършват в един реакционен флакон. В процеса изолираната РНК се транскрибира в кДНК с помощта на обратна транскриптаза. След това генните фрагменти, специфични за норовирус GI и GII/GIV, се амплифицират с помощта на PCR в реално време.

Амплифицираните целеви последователности (свързващ регион ORF1/ORF2) се откриват с помощта на хидролизните сонди, белязани с гасителя в единия край и флуоресцентно репортерно багрило (флуорофор) в другия край.

Сондите хибридизират с ампликона в присъствието на целева последователност. По време на удължаването Таq полимеразата разделя репортера от гасителя. Репортерът излъчва флуоресцентен сигнал, който се засича от оптичния блок на инструмента за PCR в реално време.

Флуоресцентният сигнал се увеличава с количеството образувани ампликони. RIDA®UNITY Internal Control Kit трябва да се използва едновременно, за да може да се провери подготовката на пробата и/или потенциалното PCR инхибиране.

### 4. Предоставени реагенти

Реактивите в комплекта са достатъчни за 96 определяния.\*

Таблица 1: Предоставени реагенти

Референтен номер	Реагент	Количество		Цвят на капака
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	жълт, готов за употреба
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	червен, готов за употреба
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	син, готов за употреба
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	бял, готов за употреба

\*При многократна употреба и в по-малки серии броят на реакциите може да бъде намален.

## 5. Инструкции за съхранение

- Следвайте указанията за работа в таблица 2 и съхранявайте комплекта непосредствено след употреба в съответствие с посочената информация.
- Всички реагенти трябва да се съхраняват далеч от светлина при -16 до -28 °C и ако не са отворени, могат да се използват до срока на годност, отпечатан върху етикета. Гаранцията за качество вече не е валидна след изтичане на срока на годност.
- Всички реагенти трябва внимателно да се размразят преди употреба (напр. в хладилник при 2 - 8 °C).
- Повтарящото се замразяване и размразяване до 8 пъти не влияе на тестовите свойства.

**Таблица 2:** Условия и информация за съхранение

	Температура на съхранение	Максимален срок на съхранение
в неотворено състояние	-16 до -28 °C	Може да се използва до отпечатания срок на годност
в отворено състояние	-16 до -28 °C	8 цикъла на замразяване и размразяване

## 6. Необходими, но непредоставени реагенти

Мултиплексният RT-PCR тест в реално време RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II е предназначен изключително за използване със системата RIDA<sup>®</sup>UNITY. Следните продукти са абсолютно необходими за правилна употреба:

### 6.1 Реагенти

Необходими са следните реагенти за изпълнение на теста RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II:

Реагенти	Номер на елемент
RIDA <sup>®</sup> UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA <sup>®</sup> UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

### 6.2 Лабораторно оборудване

Необходимо е следното оборудване за изпълнение на теста RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II:

Оборудване
Система RIDA <sup>®</sup> UNITY; номер на част: ZUNITY (R-Biopharm AG)
Консумативи RIDA <sup>®</sup> UNITY (връччета, плаки, реакционни флакони, покрития). Вижте инструкциите за употреба за системата RIDA <sup>®</sup> UNITY, информация за поръчване на консумативи.
Вортекс
Настолна центрофуга
Ръкавици за еднократна употреба без пудра
Външен циклер (възможно подобрение на системата)
CFX96 <sup>™</sup> Dx (Bio-Rad)

Комплектът RIDA<sup>®</sup>UNITY Norovirus I & II може да се използва заедно с други съвместими циклери. Алтернативните PCR инструменти в реално време трябва да бъдат проверени/потвърдени от потребителя. Свържете се с R-Biopharm AG на [pcr@r-biopharm.de](mailto:pcr@r-biopharm.de), за да проверите съвместимостта.

## 7. Предупреждения и предпазни мерки за потребителите

За *in vitro* диагностична употреба.

Този тест трябва да се извършва само от квалифициран лабораторен персонал. Трябва да се спазват указанията за работа в медицински лаборатории.

Винаги се придържайте стриктно към инструкциите за употреба, когато извършвате този тест.

Не пипетирайте проби или реагенти с устата си. Избягвайте контакт с наранена кожа и лигавици.

Носете лични предпазни средства (подходящи ръкавици, лабораторна престилка, предпазни очила), когато боравите с реагенти и проби, и измивайте ръцете си след завършване на теста.

Не пушете, не се хранете и не пийте течности в зони, където се обработват проби.

Избягвайте контаминирането на пробите и компонентите на комплекта с микроби и нуклеази (ДНКаза / РНКаза).

Клиничните проби трябва да се разглеждат като потенциално инфекциозни и трябва да се изхвърлят по подходящ начин, както всички реагенти и материали, които влизат в контакт с потенциално инфекциозни проби.

Не разменяйте и не смесвайте компонентите (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) от една партида на комплект с компонентите на друга партида.

Тестовият комплект може да се използва за 8 седмици след първоначалното отваряне (комплектът може да се презарежда до 6 пъти). Не използвайте тестовия комплект след изтичане на срока на годност. Тези спецификации също се проверяват от системата RIDA®UNITY.

Потребителите са отговорни за правилното изхвърляне на всички реагенти и материали след употреба. За изхвърляне спазвайте националните разпоредби.

Допълнителни подробности за информационния лист за безопасност (Safety Data Sheet, SDS) можете да намерите под номера на елемента на адрес <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

За потребители в Европейския съюз: докладвайте всички сериозни нежелани събития, свързани с продукта, на R-Biopharm AG и подходящите национални органи.

## 8. Вземане и съхранение на проби

Препоръчително е да се използва пресен материал за проба, за да се постигне най-добрата ефективност на анализа RIDA®UNITY Norovirus I & II.

Избягвайте многократно замразяване и размразяване на пробата.

Не събирайте проби от изпражнения в транспортни контейнери, които съдържат транспортна среда с консерванти, животински серуми, метални йони, окислителни агенти или детергенти, тъй като такива вещества може да интерферират с теста RIDA®UNITY.

Препоръчва се да се произвеждат аликвотни части от материалите за изследване, за да се избегне многократно размразяване и замразяване. Замразените проби трябва да се размразяват непосредствено преди екстракцията, за да се предотврати разграждането на нуклеиновите киселини.

Следвайте инструкциите за съхранение на проби в таблици 3 до 6.

**Таблица 3:** Съхранение на проби - Откриване на норовирусна GI

Нативни проби - изпражнение		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 дни	≤ 9 дни	≤ 6 месеца

В елуат (от изпражнение)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 часа	≤ 36 часа	≤ 1 месец

При температура на съхранение -20 / -80 °C многократното замразяване / размразяване на пробата от изпражнения до 5 пъти не оказва влияние върху свойствата на теста.

При температура на съхранение -20 °C многократното замразяване / размразяване на елуата (от изпражнение) до 3 пъти не оказва влияние върху свойствата на теста.

**Таблица 4:** Съхранение на проби - Откриване на норовирусна GII

Нативни проби - изпражнение		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 дни	≤ 9 дни	≤ 6 месеца

В елуат (от изпражнение)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 часа	≤ 36 часа	≤ 1 месец

При температура на съхранение -20 / -80 °C многократното замразяване / размразяване на пробата от изпражнения до 5 пъти не оказва влияние върху свойствата на теста.

При температура на съхранение -20 °C многократното замразяване / размразяване на елуата (от изпражнение) до 3 пъти не оказва влияние върху свойствата на теста.

### **8.1 Подготовка на ДНК от проби от изпражнения**

За да изолирате ДНК от проби от изпражнения, използвайте RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Следвайте правилните процедури в инструкциите за употреба за RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (раздел: Приготвяне на нуклеинови киселини от проби от изпражнения).

## **9. Тестова процедура**

Както пробите, така и реагентите на RIDA®UNITY Norovirus I & II са поставени на системата RIDA®UNITY в началото на употребата.

Преди това смесете

подходящо **Reaction Mix**, **Negative Control** и **Positive Control** с помощта на вортекс. Не вортексирайте **Enzyme Mix**. След това за кратко центрофугирайте всички компоненти.

PCR епруветките за пробите, които трябва да бъдат изследвани, трябва да бъдат поставени предварително във вградения PCR циклер.

Предлагат се носачи за правилно зареждане на системата с реагенти и консумативи. За процеса за зареждане следвайте инструкциите на системата RIDA®UNITY. Спазвайте съответните раздели в ръководството на системата RIDA®UNITY (раздел: Провеждане на изпълняване).

Тестът RIDA®UNITY Norovirus I & II може да се използва само в комбинация с RIDA®UNITY Internal Control Kit. Това позволява ранно разпознаване на потенциално PCR инхибиране, проверка на целостта на реагента и потвърждаване на успешната екстракция на нуклеинови киселини. Процедурата е описана в инструкциите за употреба на RIDA®UNITY Internal Control Kit (раздел: Тестова процедура).

Автоматизираното обработване е описано в ръководството на системата RIDA®UNITY (раздел: Провеждане на изпълняване).



## 9.1 Настройки на изделието

### 9.1.1 Универсален профил на PCR в реално време

За да се хармонизират анализите RIDA®UNITY, анализът RIDA®UNITY Norovirus I & II е потвърден изключително в универсалния профил. Това прави възможно комбинирането на ДНК и РНК анализи едни с други. Най-общо казано, обратната транскрипция следователно е на първо място в универсалния профил.

**Таблица 7:** Универсален профил на PCR в реално време за RIDA®UNITY

<u>Обратна транскрипция</u>	10 min, 58 °C
Първоначална денатурация	1 min, 95 °C
Цикли	45 цикъла
<u>PCR</u> Денатурация	10 секунди, 95 °C
Рекомбиниране / удължаване	15 секунди, 60 °C
Скорост на преход на температура / скорост на нарастване	Максимално

**Забележка:** Рекомбинирането и удължаването се извършват в една и съща стъпка.

**Таблица 8:** Универсален профил на PCR в реално време за CFX96™ Dx

<u>Обратна транскрипция</u>	10 min, 58 °C
Първоначална денатурация	1 min, 95 °C
Цикли	45 цикъла
<u>PCR</u> Денатурация	15 секунди, 95 °C
Рекомбиниране / удължаване	30 секунди, 60 °C
Скорост на преход на температура / скорост на нарастване	Максимално

**Забележка:** Рекомбинирането и удължаването се извършват в една и съща стъпка.

## 9.2 Настройка на канал за откриване

Таблица 9: Избор на подходящи канали за откриване

Инструмент за PCR в реално време	Откриване	Канал за откриване	Забележка
<b>R-Biopharm RIDA®UNITY</b>	Norovirus GII	FAM	SEEK channel GGII
	Internal Control	HEX	SEEK channel ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK channel GGI
<b>Bio-Rad CFX96™ Dx</b>	Norovirus GII	FAM	SEEK channel GGII
	Internal Control	VIC	SEEK channel ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK channel GGI

## 10. Контрол на качеството - индикация за нестабилност или изтичане на срока на годност на реактивите

Пробите са оценени с помощта на аналитичния софтуер RIDA®SEEK на системата RIDA®UNITY. **Negative Control** и **Positive Control** трябва да показват правилните резултати (вижте табл. 9).

**Positive Control** е налична в концентрация от  $10^3$  копия/ $\mu\text{L}$ . Използва се в общо количество  $5 \times 10^3$  копия при всяко изпълняване на PCR.

**Negative Control** вече съдържа RIDA®UNITY Internal Control. Тъй като контролите не съдържат шаблон, не трябва да се очакват сигнали в целевите канали. Положителните сигнали в IC канала, с които се открива вътрешната контрола, са от съществено значение (вижте табл. 10).

**Табл.10:** Валидно изпълняване на PCR трябва да отговаря на следните условия:

Проба	Резултат	IC Ct	Целеви ген Ct
Положителна контрола	+	непр. *	Вижте сертификата за анализ (Certificate of Analysis, CoA)
Отрицателна контрола	-	Ct > 20	0

\*При определени обстоятелства IC каналът може да има положителен сигнал в положителната контрола и следователно не трябва да се оценява.

Ако положителната контрола не е в рамките на посочения диапазон на Ct, но отрицателната контрола е валидна, всички реакции, включително контролите, трябва да бъдат повторно анализирани в PCR.

Ако отрицателната контрола не е отрицателна, но положителната контрола е валидна, всички реакции, включително контролите, трябва да се анализират повторно в PCR.

Ако посочените стойности не са покрити, проверете следните елементи, преди да повторите теста:

- Срок на годност на използваните реагенти
- Функционалност на използваното оборудване
- Правилна тестова процедура

Ако условията все още не са изпълнени след повтаряне на теста, консултирайте се с производителя или с вашия местен дистрибутор на R-Biopharm.

## 11. Оценка и интерпретация

Оценяването и интерпретацията на пробите се извършва с помощта на аналитичния софтуер на системата RIDA®UNITY - RIDA®SEEK.

Към момента няма международно признат референтен метод или референтен материал за стандартизация. Контролните материали са метрологично проследими до вътрешните стандарти на R-Biopharm AG, базирани на специфични, синтетични РНК ампликони.

За допълнителна информация относно метрологичната проследимост се свържете с R-Biopharm AG.

Определените стойности, диапазоните и допълнителни подробности могат да бъдат намерени в сертификата за анализ (Certificate of Analysis, CoA).

**Табл.11:** Интерпретация на резултатите\*

Откриване на			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Резултат
+	-	+ / -	Норовирусна GII <sup>1</sup> може да бъде открита
-	+	+ / -	Норовирусна GI може да бъде открита
+	+	+ / -	Норовирусна GII <sup>1</sup> и норовирусна GI могат да бъдат открити
-	-	+	Целеви гени не може да бъдат открити
-	-	-	Невалидно

\*+ = положително

- = отрицателно

<sup>1</sup> Вижте „Ограничения на метода“ (точка 10).

Пробата е положителна, ако РНК на пробата и **Internal Control** показват сигнал за амплификация в системата за откриване.

Проба е също положителна, ако РНК на пробата показва сигнал за амплификация, но не може да се види сигнал за амплификация за **Internal Control** в системата за откриване. Откриването на **Internal Control** в този случай не е необходимо, тъй като високите концентрации на ампликони могат да доведат до слаб или липсващ сигнал на **Internal Control**.

Пробата е отрицателна, ако РНК на пробата не показва сигнал за амплификация, но може да се види сигнал за амплификация за **Internal Control** в системата за откриване. Инхибирането на PCR реакцията и предходната екстракция може да се изключи чрез откриването на **Internal Control**.

Пробата е невалидна, ако РНК на пробата и **Internal Control** не показват сигнал за амплификация в системата за откриване. Има инхибитори в пробата или е възникнала грешка по време на процеса на екстракция.

## 12. Ограничения на метода

1. Тестът RIDA® UNITY Norovirus I & II открива РНК на норовирусна GI и норовирусна GII в необработени човешки проби от изпражнения. От това не може да се изведе връзка между нивото на определената стойност на Ct и появата на тежки клинични симптоми. Получените резултати винаги трябва да се интерпретират в комбинация с пълната клинична симптоматика.
2. Диагнозата не трябва да се основава само на резултата от молекулярно-биологичния анализ, а винаги трябва да взема предвид медицинската анамнеза и симптомите на пациента.
3. Този тест е одобрен само за автоматизирана обработка с помощта на системата RIDA®UNITY.
4. Този тест е утвърден и валидиран само за проби от изпражнения.
5. Неправилното вземане, транспортиране, съхранение и боравене или натоварване на материали за изследване с патоген под аналитичната чувствителност на теста може да доведе до фалшиво отрицателни резултати.
6. Наличието на PCR инхибитори може да доведе до фалшиво отрицателни или невалидни резултати.
7. Както при всички основани на PCR *in vitro* диагностични тестове, могат да бъдат открити изключително ниски концентрации на целевите последователности, които са под границата на откриване (LoD 95 %). Получените резултати невинаги са възпроизводими.
8. Мутациите или полиморфизмите в местата на свързване на праймера или сондата могат да попречат на откриването на нови или неизвестни варианти и могат да доведат до фалшиво отрицателни резултати при използване на RIDA®UNITY Norovirus I & II.
9. Положителният резултат от теста не означава непременно наличието на жизнеспособни организми. Положителният резултат показва присъствие на целевите гени (норовирусни GI и GII; свързващ регион ORF1/ORF2).
10. Норовирусите от геногрупа IV, които в много редки случаи могат да заразят и хора, също се откриват с помощта на RIDA®UNITY Norovirus I & II.
11. Този анализ трябва да се извършва в съответствие с регулациите за добра лабораторна практика (GLP). Потребителите трябва точно да следват инструкциите на производителя, когато извършват теста.

### 13. Характеристики на производителността

#### 13.1 Характеристики на клиничната производителност

Мултиплексният PCR в реално време RIDA®UNITY Norovirus I & II е сравнен във външна лаборатория с CE-маркиран референтен тест на базата на 237 проби от изпражнения от пациенти със симптоми на стомашно-чревна инфекция.

Резултатите показват висока чувствителност и специфичност за откриване на норовирус GI или GII в проби от човешки изпражнения.

**Таблица 12:** Откриване на норовирусна GI

		Референтен PCR		Общо
		Положително	Отрицателно	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Положително	33	0	33
	Отрицателно	3	201	204
	Общо	36	201	237

Относителна чувствителност (95% CI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Относителна специфичност (95% CI)	100 % (98,2 % - 100 %)

**Таблица 13:** Откриване на норовирусна GII

		Референтен PCR		Общо
		Положително	Отрицателно	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Положително	126	0	126
	Отрицателно	4	107	111
	Общо	130	107	237

Относителна чувствителност (95% CI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Относителна специфичност (95% CI)	100 % (96,6 % - 100 %)

## 13.2 Характеристики на аналитичната производителност

### 13.2.1 Граница на откриване (LoD 95%)

Положителна проба (сборни отрицателни проби от изпражнения, с добавка на проби от положителни клинични проби от изпражнения) се измерва в пет стъпки на разреждане (на стъпки от 0,25 log) за всяка цел с 20 повторения на стъпка в една партида, за да се определи LoD. Това беше последвано от пробит анализ. След това изчислената LoD беше потвърдена с 20 повторения на цел за изчислената стъпка / концентрация на разреждане.

За откриването на РНК на норовирусна GI и норовирусна GII с помощта на анализа RIDA®UNITY Norovirus I & II на системата UNITY бяха идентифицирани следните граници на откриване (LoD).

Резултатите от тези измервания са показани в таблица 15.

**Таблица 15:** Резултати от границата на откриване на теста RIDA®UNITY Norovirus I & II за параметри норовирусна GI и норовирусна GII в проби от изпражнения

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4,85E-04 [фактор на разреждане]**	5,98E-05 [фактор на разреждане]*

(\*) Относително разреждане на основната концентрация. Положителна клинична проба със Ct диапазон от 26 - 27

(\*\*) Относително разреждане на основната концентрация. Положителна клинична проба със Ct диапазон от 30 - 31

LoD за параметъра норовирусна GI в проби от изпражнения беше определена на 4,85E-04 [фактор на разреждане]

LoD за параметъра норовирусна GII в проби от изпражнения беше определена на 5,98E-05 [фактор на разреждане].

За разширения работен процес чрез CFX96™ Dx тези стойности за LoD са потвърдени при предположението, че оставаме в 2-3-кратен диапазон на LoD.

### 13.2.2 Аналитична специфичност

#### Интерфериращи вещества

Наличието на PCR инхибитори и интерфериращи вещества може да доведе до фалшиво отрицателни или невалидни резултати. Поради това са изследвани ефектите на различни вещества, които могат да съществуват предвид широкото им използване за стомашно-чревни инфекции или широко разпространение в съответните материали за изследване.

Веществата, които биха могли да повлияят значително на резултатите от теста, са били изследвани първоначално при високи концентрации (тройна дневна доза или симулация на най-лошия случай) в екран за интерференция.

Не е установена интерференция за веществата, изброени в таблица 16.

**Таблица 16:** Потенциално интерфериращи вещества

Потенциално интерфериращо вещество	Концентрация
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg филмирани таблетки (ципрофлоксацин)	0,375 % [w/v]
Етанол	5 % на основата на елуата
Гуанидин хидрохлорид	5 % на основата на елуата
Човешка кръв	5 % [v/v]
Муцини	5 % [w/v]
Стеаринова / палмитинова киселина	40 % [w/v]



## Кръстосани реакции

Изследвани са различни организми (бактерии, паразити и вируси), които често могат да бъдат открити в матрицата на изпражненията. Микроорганизмите, които трябва да бъдат изследвани за този анализ, са избрани, защото или те естествено се срещат в проби от изпражнения, или причиняват съответните симптоми като стомашно-чревни патогени. За анализите са използвани бактериални култури (между  $10^7$  и  $10^9$  CFU/mL) и гъбични култури или вирусни изолати (от положителни проби от изпражнения) за съответните организми.

Мултиплексният PCR в реално време RIDA<sup>®</sup> UNITY Norovirus I & II е специфичен за норовирусна GI и норовирусна GII. Не бяха открити кръстосани реактивности със следните видове (вижте таблица 17):

**Таблица 17:** Потенциално кръстосано реактивни организми.

Организъм	Резултат от теста*	
	Norovirus GI	Norovirus GII
Аденовирус	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-
Astrovirus	-	-
<i>Bacillus cereus</i>	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-
<i>Campylobacter fetus</i>	-	-
<i>Campylobacter lari</i>	-	-
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	-	-
<i>Campylobacter coli</i>	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	-
<i>Clostridium perfringens</i>	-	-
<i>Clostridium sordellii</i>	-	-
<i>E. coli</i> (O157:H7)	-	-
<i>E. coli</i> (O26:H-)	-	-
<i>E. coli</i> (O6)	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	-	-

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
Ротавирус	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Enteritidis)	-	-
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhimurium)	-	-
<i>Serratia liquefaciens</i>	-	-
<i>Shigella flexneri</i>	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	-	-
<i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-

### 13.2.3 Прецизност

Прецизността на PCR теста в реално време RIDA®UNITY Norovirus I & II беше определена за следните нива на внимание.

*Вътреанализна прецизност:* Определяне на 5 контролни проби с използване на 20 повторения, всяка на RIDA®UNITY при идентични условия.

*Междуанализна прецизност:* Определяне на 5 контролни проби в 20 изпълнения в два екземпляра за 10 работни дни (2 изпълнения на ден), извършено на различни инструменти при възпроизводими условия.

тестването за *вътре-* и *междуанализната* прецизност беше извършено с помощта на три различни партии.

Получените коефициенти на вариация на съответните измервания, направени с помощта на PCR теста в реално време RIDA®UNITY Norovirus I & II не бяха повече от 4,82 % на RIDA®UNITY и не повече от 3,25 % на CFX96™ Dx.

**Таблица 18:** Резултати за прецизността на теста RIDA®UNITY Norovirus I & II за норовирусна GI (система RIDA®UNITY)

Ct средна стойност / CV	Вътреаналитична			Междуаналитична			Междупартидна	
	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партиди на комплект 1 - 3	
1	Ct	25,6	24,1	24,3	30,5	29,6	29,4	29,8
	CV (%)	1,27	0,58	0,97	2,97	1,51	2,16	3,04
2	Ct	29,5	29,2	29,3	29,1	28,4	28,3	28,6
	CV (%)	0,42	1,06	0,99	3,11	2,40	2,69	3,10
3	Ct	34,8	33,3	34,1	26,4	25,5	25,4	25,8
	CV (%)	1,11	1,00	1,44	3,01	1,77	2,40	3,14
4	Ct	33,0	33,5	31,9	29,7	28,8	28,7	29,1
	CV (%)	1,50	1,30	0,93	3,17	2,34	2,75	3,35
5	Ct	Отрицателно	Отрицателно	Отрицателно	Отрицателно	Отрицателно	Отрицателно	Отрицателно
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Таблица 19:** Резултати за прецизността на теста RIDA®UNITY Norovirus I & II за норовирусна GI (CFX96™ Dx)

Ct средна стойност / CV	Вътреаналитична			Междуаналитична			Междуп артидна	
	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партиди на комплект 1 - 3	
1	Ct	26,7	26,1	25,4	29,6	29,0	28,7	29,1
	CV (%)	0,97	0,94	0,93	2,49	1,62	1,50	2,44
2	Ct	30,3	30,0	29,6	28,2	27,4	27,2	27,6
	CV (%)	0,72	0,90	0,51	2,20	1,75	1,66	2,66
3	Ct	33,1	32,6	32,5	25,7	25,2	25,0	25,3
	CV (%)	0,81	0,74	0,82	1,91	1,40	1,48	2,13
4	Ct	32,4	31,9	31,7	28,9	28,3	28,0	28,4
	CV (%)	1,16	0,74	0,64	2,83	1,95	1,98	2,72
5	Ct	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Таблица 20:** Резултати за прецизността на теста RIDA®UNITY Norovirus I & II за норовирусна GIІ (система RIDA®UNITY)

Ct средна стойност / CV	Вътреаналитична			Междуаналитична			Междуп артидна	
	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партиди на комплект 1 - 3	
1	Ct	23,4	21,7	21,7	28,4	26,9	26,8	27,4
	CV (%)	1,12	0,39	1,00	4,02	1,98	2,64	4,46
2	Ct	27,9	26,8	26,8	30,6	29,4	29,2	29,7
	CV (%)	0,76	0,77	0,75	3,42	2,33	2,64	3,69
3	Ct	33,6	31,6	32,3	23,7	22,6	22,4	22,9
	CV (%)	1,43	0,85	1,43	3,93	2,16	2,63	4,31
4	Ct	31,7	31,4	30,1	27,3	25,8	25,7	26,3
	CV (%)	1,45	1,31	0,96	4,30	2,86	3,34	4,82
5	Ct	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

**Таблица 21:** Резултати за прецизността на теста RIDA®UNITY Norovirus I & II за норовирусна GII (CFX96™ Dx)

Ct средна стойност / CV	Вътреаналитична			Междуаналитична			Междуп артидна	
	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партида на комплект 1	Партида на комплект 2	Партида на комплект 3	Партиди на комплект 1 - 3	
1	Ct	24,2	23,4	22,7	27,7	27,2	26,8	27,2
	CV (%)	1,07	1,02	1,23	3,19	2,06	1,91	2,94
2	Ct	28,6	28,3	27,8	29,1	28,3	28,1	28,5
	CV (%)	0,93	0,65	0,83	2,23	1,65	1,93	2,70
3	Ct	32,0	31,4	31,2	22,9	22,4	22,2	22,5
	CV (%)	0,85	0,90	0,61	2,28	1,42	1,57	2,45
4	Ct	30,8	30,2	30,0	26,6	26,1	25,8	26,2
	CV (%)	1,11	0,69	0,85	3,25	2,27	2,23	3,03
5	Ct	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно	Отрицате лно
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

### 13.2.4 Аналитична реактивност

Реактивността на мултиплексния RT-PCR тест в реално време RIDA®UNITY Norovirus I & II беше изследвана върху дефиниран панел от различни норовирусни генотипове от геногрупи I и II (вижте табл. 22).

**Таблица 22:** Тестване на аналитична реактивност

Щам	Резултат*	
	Norovirus GII	Norovirus GI
Norovirus P31-GII4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P4 New Orleans/GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P16-GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.P16-GII.2	+	-
Norovirus GII.P31-GII.4 Sydney	+	-
Norovirus GII.7	+	-
Norovirus GI.3	-	+

\*+ = положителен (поне 2 от 3 положителни повторения)










- = отрицателно

## 14. История на версиите


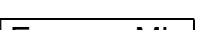

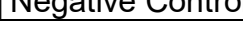
Номер на версията	Раздел и задание
2022-08-09	Версия на изданието

## 15. Пояснение на символите

### Общи символи

	За <i>in vitro</i> диагностична употреба
	Спазвайте инструкциите за употреба
	Партиден номер
	Да се използва преди
	Температура на съхранение
	Номер на елемент
	Брой тестове
	Дата на производство
	Производител

### Специфични за теста символи

	Реакционна смес
	Ензимна смес
	Отрицателна контрола
	Положителна контрола



## 16. Источници

1. Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, Chan MC, Green K, Martella V, et al. Updated classification of norovirus genogroups and genotypes. *J Gen Virol*. 2019;100(10):1393-406.
2. Robilotti E, Deresinski S, Pinsky BA. Norovirus. *Clin Microbiol Rev*. 2015;28(1):134-64.
3. Barclay L, Davis T, Vinjé J. Rare Norovirus GIV Foodborne Outbreak, Wisconsin, USA. *Emerg Infect Dis*. 2021;27(4):1151-4.
4. Nordgren J, Svensson L. Genetic Susceptibility to Human Norovirus Infection: An Update. *Viruses*. 2019;11(3).