

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



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

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



1. Sihtotstarve

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks. RIDA®UNITY platvormiga tehtud analüüs RIDA®UNITY Norovirus I & II on reaalajas läbiviidav multipleks-RT-PCR-analüüs genogrupi I (GI) ja genogrupi II (GII) noroviiruste RNA otseseks kvalitatiivseks tuvastamiseks ja eristamiseks inimese väljaheite töötlemata proovides inimestelt, kellel on ägeda gastroenteriidi tunnused ja sümptomid.

Analüüs RIDA®UNITY Norovirus I & II on mõeldud genogrupi I (GI) ja II (GII) noroviiruse nakkuste diferentsiaaldiagnoosimiseks patsientidel, kellel on gastroenteriidi sümptomid koos muude kliiniliste ning laboratoorsete leidudega.

Negatiivsed tulemused ei välista noroviiruse nakkust ja diagnoosimisel ei tohiks ainult neile toetuda.

Toode on mõeldud professionaalseks kasutamiseks.

2. Analüüsi kokkuvõte ja selgitus

Noroviirused on üks maailma levinumaid mittebakteriaalse gastroenteriidi põhjusi inimestel igas vanuserühmas, mille tagajärjel sureb igal aastal umbes 70 000 kuni 200 000 inimest⁽¹⁾. Need põhjustavad umbes 20% kõigist ägeda gastroenteriidi juhtudest kogu maailmas. Inimese noroviirused, mida varem nimetati Norwalki viirusteks, tuvastati esimest korda 1972. aastal väljaheiteproovides, mis koguti gastroenteriidi puhangu ajal USA Ohio osariigis Norwalkis, mistõttu peetakse neid esimesteks viiruslikeks patogeenideks, mis tõestatult põhjustavad gastroenteriiti⁽²⁾. Noroviirused kuuluvad perekonda *Caliciviridae* ja on väikesed ümbriseta viirused, millel on üheaahelaline RNA (ssRNA). Viiruse RNA-sõltuva RNA polümeraasi ja kapsiidivalgu geneetiliste järjestuste põhjal jagatakse noroviirused 10 genogruppi (GI kuni GX), millel on praegu rohkem kui 49 erinevat genotüüpi (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI ning 1 genotüüp GVII, GVIII, GIX [endine GII.15] ja GX kohta) ning mitmeid tüvesid. Inimese patogeensuse seisukohast on kõige olulisemad genogrupid I, II ja mõnikord IV⁽¹⁾. Ameerika Ühendriikides on enam kui 99 % kõigist noroviiruse puhangutest põhjustatud GI ja GII viirustest⁽³⁾. Noroviiruste põhjustatud gastroenteriiti põhjustab sageli väljaheites ja okses leiduvate viiruste olemasolu, samas kui haiguse tekitamiseks kulub vaid 10 nakkusohtlikku osakest. Kõrge keskkonnastabiilsus ja madal nakkusdoos muudavad noroviiruse väga edasikanduvaks⁽⁴⁾. Tüüpilised sümptomid noroviiruse infektsioonid on kõhulahtisus, oksendamine, ja iiveldus⁽³⁾.

3. Analüüsi põhimõte

RIDA®UNITY Norovirus I & II reaajas läbiviidav multipleks-RT-PCR-analüüs on molekulaardiagnostiline PCR genogrupi I (GI) noroviiruse RNA ja genogrupi II (GII) noroviiruse RNA ja GIV RNA otseseks kvalitatiivseks tuvastamiseks ja eristamiseks inimese väljaheiteproovis. Süsteemiga RIDA®UNITY System on töötlemine täielikult automatiseeritud. Esiteks ekstraheeritakse nukleiin happed, kasutades komplekti RIDA®UNITY Universal Extraction Kit ja sisekontrollikomplekti Internal Control Kit. Sihtmärkjärjestus tuvastatakse üheastmelises reaallaja RT-PCR-vormingus, st pöördtranskriptsioon (RT) ja järgnev PCR tehakse ühes reaktsioonivahetuses. Selle käigus transkribeeritakse eraldatud RNA pöördtranskriptaasi abil cDNA-ks. Seejärel amplifitseeritakse noroviiruse GI ja GII/GIV spetsiifilised geenifragmendid, kasutades reaajas PCR-i.

Amplifitseeritud sihtmärkjärjestused (ORF1/ORF2 liitumispiirkond) tuvastatakse hüdrolüüsisondega, mis on ühest otsast märgistatud kustutaja ja teisest otsast fluorestseeruva reportervärviga (fluorofoor). Sondid hübridiseeruvad sihtmärkjärjestuse juuresolekul ampikoniks. Laiendamise ajal eraldab Taq polymerase reporter molekuli kustutajast. Reporter väljastab fluorestsentsignaali, mille tuvastab reaajas PCR-seadme optiline üksus. Moodustunud ampikonide hulga suurenedes tugevneb fluorestsentsignaali. Proovi valmistamise ja/või võimaliku PCR-i inhibitsiooni kontrollimiseks tuleb samal ajal kasutada sisekontrollikomplekti RIDA®UNITY Internal Control Kit.

4. Komplekti kuuluvad reaktiivid

Komplekti kuuluvatest reaktiividest piisab 96 määramiseks.*

Tabel 1. Komplekti kuuluvad reaktiivid

NR	Reaktiiv	Kogus		Kaane värv
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	kollane, kasutusvalmis
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	punane, kasutusvalmis
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	sinine, kasutusvalmis
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	valge, kasutusvalmis

* Korduval kasutamisel ja väiksemates seeriates võib reaktsioonide arv väheneda.

5. Säilitamisjuhised

- Järgige tabelis 2 esitatud käsitsemisjuhiseid ja säilitage komplekti vahetult pärast kasutamist neis kirjeldatud viisil.
- Kõiki reaktiive tuleb hoida valguse eest kaitstult temperatuuril -16 °C kuni -28 °C ning avamata kujul võib neid kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani. Kvaliteedigarantii pärast aegumiskuupäeva enam ei kehti.
- Kõik reaktiivid tuleb enne kasutamist hoolikalt sulatada (nt külmkapis temperatuuril 2-8 °C).
- Kuni 8 korda uuesti külmutamine ja sulatamine ei mõjuta analüüsi omadusi.

Tabel 2. Säilitamistingimused ja teave

	Säilitamistemperatuur	Maksimaalne säilitamisaeg
avamata	-16 ... -28 °C	Võib kasutada kuni etiketile trükitud aegumiskuupäevani
avatud	-16 ... -28 °C	8 külmutus-/sulatamistsükli

6. Vajalikud reaktiivid, mis ei kuulu komplekti

Reaalajas läbiviidav multipleks-RT-PCR-analüüs RIDA®UNITY Norovirus I & II on mõeldud kasutamiseks ainult süsteemiga RIDA®UNITY System. Õige kasutamiseks on järgmised tooted hädavajalikud.

6.1 Reaktiivid

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II tegemiseks on vaja järgmisi reaktiive.

Reaktiivid	Artikli number
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboriseadmed

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II tegemiseks on vaja järgmisi seadmeid.

Seadmed
Süsteem RIDA®UNITY System; artikli number: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY tarvikud (otsakud, plaadid, reaktsiooniviaalid, kiled). Teavet tarvikute tellimise kohta vaadake süsteemi RIDA®UNITY System kasutusjuhendist.
Vorteksmikser
Lauapealne tsentrifuug
Pulbrivabad ühekordsed kindad
Väline tsükler (võimalik süsteemi täiustus)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Komplekti RIDA®UNITY Norovirus I & II saab kasutada koos teiste ühilduvate tsükleritega. Kasutaja peab kontrollima/valideerima alternatiivseid reaalajas PCR-i seadmeid. Ühilduvuse kontrollimiseks võtke ühendust R-Biopharm AG-ga aadressil pcr@r-biopharm.de.

7. Hoiatused ja ettevaatusabinõud kasutajatele

In vitro diagnostiliseks kasutamiseks.

Seda analüüsi tohivad teha ainult kvalifitseeritud laboritöötajad. Järgida tuleb meditsiinilaborites töötamise suuniseid.

Analüüsi tehes järgige alati rangelt kasutusjuhendit.

Ärge kasutage proovide ega reaktiivide pipeteerimisel oma suud. Vältige haavadele ja limaskestadele sattumist.

Kandke reaktiivide ja proovide käsitlemisel isikukaitsevahendeid (sobivaid kindaid, laborikitlit, kaitseprille) ja peske pärast analüüsi lõpetamist käsi.

Ärge suitsetage, sööge ega jooge kohtades, kus proove käsitletakse.

Vältige proovide ja komplekti komponentide saastumist mikroobide ning nukleaasidega (DNAas/RNAas).

Kliinilisi proove tuleb käsitleda potentsiaalselt nakkusohtlikena ja need tuleb nõuetekohaselt hävitada, nagu kõik potentsiaalselt nakkusohtlike proovidega kokkupuutuvad reaktiivid ja materjalid.

Ärge vahetage ega segage ühe komplekti partii komponente (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) teise partii komponentidega.

Testikomplekti võib kasutada 8 nädala jooksul pärast esimest avamist (komplekti võib kuni 6 korda uuesti laadida). Ärge kasutage testikomplekti pärast

aegumiskuupäeva. Neid andmeid kontrollib ka süsteem RIDA[®]UNITY System.

Kasutajad vastutavad kõigi materjalide nõuetekohase kõrvaldamise eest pärast kasutamist. Kõrvaldamisel järgige riiklikke eeskirju.

Lisateavet ohutuskaardi (Safety Data Sheet, SDS) kohta leiate kaubanumbrilt aadressil

<https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Euroopa Liidu kasutajatele. Teatage kõigist tootega seotud rasketest kõrvaltoimetest ettevõttele R-Biopharm AG ja vastavatele riiklikele ametiasutustele.

8. Proovide võtmine ja säilitamine

Analüüsiga RIDA[®]UNITY Norovirus I & II parima tulemuse saavutamiseks on soovitatav kasutada värsket proovimaterjali.

Vältige proovi korduvat külmutamist ja sulatamist.

Ärge võtke väljaheiteproove transpordimahutitesse, mis sisaldavad säilitusainetega transpordiaineid, loomseid seerumeid, metalliioone, oksüdeerivaid aineid või detergente, kuna need ained võivad RIDA[®]UNITY analüüse mõjutada.

Soovitatav on valmistada proovidest alikvoodid, et vältida korduvat sulatamist ja külmutamist. Külmutatud proovid tuleb vahetult enne ekstraheerimist üles sulatada, et vältida nukleiinhapete lagunemist.

Järgige tabelites 3 kuni 6 toodud proovi säilitamise suuniseid.

Tabel 3. Proovide säilitamine - noroviiruse GI tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20-25 °C	2-8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 päeva	≤ 9 päeva	≤ 6 kuud

Eluaadis (väljaheitest)		
30 °C	2-8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 1 kuu

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheiteproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheitest) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

Tabel 4. Proovide säilitamine - noroviiruse GII tuvastamine

Töötlemata proovid - väljaheide		
20-25 °C	2-8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 päeva	≤ 9 päeva	≤ 6 kuud

Eluaadis (väljaheitest)		
30 °C	2-8 °C	-20 °C
≤ 24 tundi	≤ 36 tundi	≤ 1 kuu

Säilitamisel temperatuuril -20 °C / -80 °C ei mõjuta väljaheiteproovide korduv külmutamine/sulatamine (kuni 5 korda) testi omadusi.

Säilitamisel temperatuuril -20 °C ei mõjuta testi omadusi eluaadi (väljaheitest) korduv külmutamine/sulatamine kuni 3 korda.

8.1 DNA preparaadi valmistamine väljaheiteproovidest

Väljaheiteproovidest DNA isoleerimiseks kasutage komplekti RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Järgige komplekti RIDA®UNITY Universal Extraction Kit kasutusjuhendis esitatud õigeid protseduure (jaotis: Nukleiinhappe valmistamine väljaheiteproovidest).

9. Analüüsiprotseduur

Pange komplekti RIDA®UNITY Norovirus I & II proovid ja reaktiivid kasutamise alguses süsteemi RIDA®UNITY System.

Segage esmalt kontrollmaterjale [Reaction Mix], [Negative Control] ja [Positive Control], kasutades vorteksmikserit. Ärge keerutage kontrollmaterjali [Enzyme Mix]. Seejärel tsentrifugeerige lühidalt kõiki komponente.

Uuritavate proovide PCR-katsutid tuleb esmalt asetada integreeritud PCR-tsüklerisse.

Kandurid on saadaval reaktiivide ja tarvikute õigeks sisestamiseks süsteemi. Laadimisprotsessi vaadake süsteemi RIDA®UNITY System juhendist. Järgige süsteemi RIDA®UNITY System kasutusjuhendi asjakohaseid jaotisi (jaotis: Tsükli sooritamine).

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II võib kasutada ainult koos komplektiga RIDA®UNITY Internal Control Kit. See võimaldab varakult tuvastada potentsiaalset PCR-i inhibitsiooni, kontrollida reaktiivi terviklikkust ja kinnitada nukleiinhappe edukat ekstraheerimist. Protseduuri kirjeldatakse komplekti RIDA®UNITY Internal Control Kit kasutusjuhendis (jaotis: Analüüsiprotseduur).

Automaatset töötlemist on kirjeldatud süsteemi RIDA®UNITY System kasutusjuhendis (jaotis: Tsükli sooritamine).

9.1 Seadme sätted

9.1.1 Universaalse reaalaajas PCR-i profiil

Analüüside RIDA®UNITY ühtlustamiseks kinnitati analüüs RIDA®UNITY Norovirus I & II universaalsel profiilil. See võimaldab DNA- ja RNA-analüüse omavahel kombineerida. Üldiselt on pöördtranskriptsioon seega universaalses profiilis esikohal.

Tabel 7. Universaalne reaalaaja PCR-profiil RIDA®UNITY jaoks

<u>Pöördtranskriptsioon</u>	10 min, 58 °C
Esialgne denatureerimine	1 min, 95 °C
Tsüklid	45 tsüklit
<u>PCR</u> Denatureerimine	10 s, 95 °C
Anniilimine/laiendamine	15 s, 60 °C
Temperatuuri üleminekukiirus/rambikiirus	Maksimaalne

Märkus. Anniilimine ja laiendamine toimuvad samas etapis.

Tabel 8. Universaalne reaalaajas PCR-profiil CFX96™ Dx-i jaoks

<u>Pöördtranskriptsioon</u>	10 min, 58 °C
Esialgne denatureerimine	1 min, 95 °C
Tsüklid	45 tsüklit
<u>PCR</u> Denatureerimine	15 s, 95 °C
Anniilimine/laiendamine	30 s, 60 °C
Temperatuuri üleminekukiirus/rambikiirus	Maksimaalne

Märkus. Anniilimine ja laiendamine toimuvad samas etapis.

9.2 Tuvastuskanali seadistamine

Tabel 9. Sobivate tuvastuskanalite valimine

Reaalajas PCR-i seade	Tuvastamine	Tuvastuskanal	Märkus
R-Biopharm RIDA®UNITY	Noroviirus GII	FAM	SEEK-i kanal GGII
	Sisekontroll	HEX	SEEK-i kanal ICD
	Noroviirus GI	Cy5	SEEK-i kanal GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Noroviirus GII	FAM	SEEK-i kanal GGII
	Sisekontroll	VIC	SEEK-i kanal ICD
	Noroviirus GI	Cy5	SEEK-i kanal GGI

10. Kvaliteedikontroll - reaktiivide ebastabiilsuse või aegumise väljaselgitamine

Proove hinnatakse süsteemi RIDA®UNITY System analüüsitarkvaraga RIDA®SEEK. Kontrollmaterjalid **Negative Control** ja **Positive Control** peavad näitama õigeid tulemusi (vt tabelit 9).

Kontrollmaterjal **Positive Control** on olemas kontsentratsiooniga 10^3 eksemplari μL kohta. Seda kasutatakse kokku 5×10^3 eksemplari igas PCR-i tsükklis.

Kontrollmaterjal **Negative Control** sisaldab juba RIDA®UNITY sisekontrolli. Kuna kontrollmaterjalid ei sisalda malli, ei ole sihtkanalites signaale oodata. Olulised on positiivsed signaalid IC-kanalis, millega sisekontrolli tuvastatakse (vt tabelit 10).

Tabel 10. Kehtiv PCR-i tsükkel peab vastama järgmistele tingimustele.

Proov	Tulemus	IC Ct	Sihtgeeni Ct
Positiivne kontrollmaterjal	+	Ei kohaldata*	Vt analüüsisertifikaati (Certificate of Analysis, CoA)
Negatiivne kontrollmaterjal	-	Ct > 20	0

* Teatud tingimustel võib IC-kanalil olla positiivne signaal positiivses kontrollmaterjalis ja seetõttu ei tohiks seda hinnata.

Kui positiivne kontrollmaterjal ei ole määratud Ct-vahemikus, kuid negatiivne kontrollmaterjal on kehtiv, tuleb kõiki reaktsioone, sealhulgas kontrollmaterjale, uuesti PCR-is analüüsida.

Kui negatiivne kontrollmaterjal ei ole negatiivne, kuid positiivne kontrollmaterjal on kehtiv, tuleb kõiki reaktsioone, sealhulgas kontrollmaterjale, uuesti PCR-is analüüsida.

Kui määratud väärtused ei ole täidetud, kontrollige enne analüüsi kordamist järgmisi punkte:

- Kasutatavate reaktiivide aegumiskuupäev
- Kasutatavate seadmete toimivus
- Õige testimisprotseduur

Kui tingimused ei ole pärast testi kordamist ikka täidetud, konsulteerige tootja või kohaliku R-Biopharmi hulgemüüjaga.

11. Hindamine ja tõlgendamine

Proovide hindamine ja tõlgendamine toimub süsteemi RIDA®UNITY System analüüsitarkvaraga RIDA®SEEK.

Praegu ei ole standardimiseks olemas rahvusvaheliselt tunnustatud võrdlusmeetodit ega võrdlusmaterjali. Kontrollmaterjale saab spetsiifiliste sünteetiliste RNA-amplikonide põhjal metrooloogiliselt jälgida R-Biopharm AG sisestandardite alusel.

Lisateabe saamiseks metrooloogilise jälgitavuse kohta pöörduge R-Biopharm AG poole.

Määratud väärtused, vahemikud ja lisaandmed leiate lisatud analüüsisertifikaadist (Certificate of Analysis, CoA).

Tabel 11. Tulemuste tõlgendamine*

Tuvastamine			
Noroviirus GII	Noroviirus GI	IC	Tulemus
+	-	+/-	Noroviirus GII ¹ on tuvastatav
-	+	+/-	Noroviirus GI on tuvastatav
+	+	+/-	Noroviirus GII ¹ ja noroviirus GI on tuvastatav
-	-	+	Sihtgeenid pole tuvastatavad
-	-	-	Kehtetu

*+ = positiivne

- = negatiivne

¹ Vt jaotist Meetodi piirangud (jaotis 10)

Proov on positiivne, kui proovimaterjali RNA ja Internal Control näitavad tuvastussüsteemis amplifikatsioonisignaali.

Proov on samuti positiivne, kui proovimaterjali RNA näitab amplifikatsioonisignaali, kuid tuvastamissüsteem ei näita kontrollmaterjali Internal Control amplifikatsioonisignaali. Sellisel juhul pole kontrollmaterjali Internal Control tuvastamine vajalik, kuna suur amplikoni kontsentratsioon võib põhjustada kontrollmaterjali Internal Control nõrka või puuduvat signaali.

Proov on negatiivne, kui proovimaterjali RNA ei näita amplifikatsioonisignaali, kuid kontrollmaterjali Internal Control amplifikatsioonisignaali on tuvastamissüsteemis nähtav. PCR-reaktsiooni inhibeerimise ja varasema ekstraheerimise saab välistada kontrollmaterjali Internal Control tuvastamisega.

Proov on kehtetu, kui proovimaterjali RNA ja kontrollmaterjal Internal Control ei näita tuvastussüsteemis amplifikatsioonisignaali. Proovis on inhibiitoreid või ekstraheerimisprotsessi käigus ilmnud tõrge.

12. Meetodi piirangud

1. RIDA[®]UNITY Norovirus I & II tuvastab noroviirus GI ja noroviirus GII RNA inimese töötlemata väljaheiteproovides. Sellest ei saa tuletada seost määratud Ct-väärtuse taseme ja raskete kliiniliste sümptomite esinemise vahel. Saadud tulemusi tuleb alati tõlgendada koos kõigi kliiniliste sümptomitega.
2. Diagnoos ei tohiks põhineda ainult molekulaarbioloogilise analüüsi tulemustel, vaid alati tuleb arvestada patsiendi haiguslugu ja sümptomeid.
3. See analüüs on heaks kiidetud ainult automaatseks töötlemiseks süsteemi RIDA[®]UNITY System abil.
4. See analüüs on kinnitatud ja valideeritud ainult väljaheiteproovide jaoks.
5. Nõuetevastane proovivõtt, transportimine, säilitamine ja käsitlemine või patogeenikoormus, mis jääb allapoole analüüsi analüütilist tundlikkust, võib põhjustada valenegatiivseid tulemusi.
6. PCR-i inhibiitorite olemasolu võib põhjustada valenegatiivseid või kehtetuid tulemusi.
7. Nagu kõigi PCR-i-põhiste *in vitro* diagnostiliste analüüside puhul, saab tuvastada väga väikseid sihtmärkjärjestuste kontsentratsioone, mis jäävad alla tuvastamispiiri (LoD 95%). Saadud tulemused ei ole alati korratavad.
8. Mutatsioonid või polümorfismid praimerite või sondi sidumiskohtades võivad segada uute või tundmatute variantide tuvastamist ja põhjustades analüüsiga RIDA[®]UNITY Norovirus I & II valenegatiivseid tulemusi.
9. Positiivne analüüsitulemus ei näita tingimata elujõuliste organismide olemasolu. Positiivne tulemus näitab, et sihtgeenid (noroviirus GI ja GII, ORF1/ORF2 liitumispiirkond) on olemas.
10. Analüüsi RIDA[®]UNITY Norovirus I & II abil avastatakse ka IV genogrupi noroviirused, mis väga harvadel juhtudel võivad nakatada ka inimesi.
11. See analüüs tuleb teha hea laboritava määruse (GLP) kohaselt. Kasutajad peavad analüüsi tegemisel tootja suuniseid täpselt järgima.

13. Toimivusnäitajad

13.1 Kliinilised toimivusnäitajad

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplekset reaalaajas PCR-i võrreldi välises laboris CE-märgisega referentsanalüüsiga, mis põhines 237 väljaheiteproovil patsientidelt, kellel esinesid seedetrakti infektsiooni sümptomid.

Tulemused näitavad suurt tundlikkust ja spetsiifilisust noroviiruse GI või GI tuvastamisel inimese väljaheiteproovides.

Tabel 12. Noroviirus GI tuvastamine

		Võrdlus-PCR		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Positiivne	33	0	33
	Negatiivne	3	201	204
	Kokku	36	201	237

Suhteline tundlikkus (95% CI)	91,7% (77,5% - 98,2%)
Suhteline spetsiifilisus (95% CI)	100% (98,2% - 100%)

Tabel 13. Noroviirus GII tuvastamine

		Võrdlus-PCR		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Positiivne	126	0	126
	Negatiivne	4	107	111
	Kokku	130	107	237

Suhteline tundlikkus (95% CI)	96,9% (92,3% - 99,2%)
Suhteline spetsiifilisus (95% CI)	100% (96,6% - 100%)

13.2 Analüütilised toimivusnäitajad

13.2.1 Tuvastuspiir (LoD 95%)

Positiivset proovi (negatiivsed väljaheiteproovid, rikastatud kliiniliste väljaheiteproovidega) mõõdeti iga sihtmärgi puhul viies lahjendusastmes (0,25-log astmetena), kusjuures ühes partiis mõõdeti LoD määramiseks 20 kordusmääramist ühe astme kohta. Sellele järgnes probitanalüüs. Seejärel kinnitati arvutatud LoD 20 kordusega sihtmärgi kohta arvutatud lahjendusetapi/kontsentratsiooni puhul.

Noroviirus GI ja noroviirus GII RNA tuvastamiseks analüüsiga RIDA®UNITY Norovirus I & II, kasutades süsteemi Unity System, määrati järgmised tuvastuspiirid (LoD).

Nende mõõtmiste tulemused on antud tabelis 15.

Tabel 15. Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II tuvastuspiiri tulemused noroviirus GI ja noroviirus GII parameetrite puhul väljaheiteproovides.

	Noroviirus GI	Noroviirus GII
LoD	4,85E-04 [lahjendustegur]**	5,98E-05 [lahjendustegur]*

(*) Varude kontsentratsiooni suhteline lahjendus. Positiivne kliiniline proov Ct vahemikuga 26-27

(**) Varude kontsentratsiooni suhteline lahjendus. Positiivne kliiniline proov Ct vahemikuga 30-31

Parameetri noroviirus GI LoD väljaheiteproovides määrati tasemel 4,85E-04 [lahjendustegur].

Parameetri noroviirus GII LoD väljaheiteproovides määrati tasemel 5,98E-05 [lahjendustegur].

Täiustatud töövoos jaoks, kasutades CFX96™ Dx-i, kinnitati need LoD väärtused eeldusel, et jääme 2-3-kordsesse LoD vahemikku.

13.2.2 Analüütiline spetsiifilisus

Segavad ained

Reaalajas PCR-i inhibiitorite ja segavate ainete olemasolu võib põhjustada valenegatiivseid või kehtetuid tulemusi. Seetõttu uuriti erinevate ainete mõju, mis võivad esineda, arvestades nende laialdast kasutamist seedetrakti infektsioonide raviks või nende laialdast esinemist vastavates proovides.

Aineid, mis võisid testitulemusi oluliselt mõjutada, uuriti esialgu suures kontsentratsioonis (kolmekordne ööpäevane annus või halvima juhtumi simulatsioon) segava mõju suhtes.

Tabelis 16 loetletud ainete puhul segavat mõju ei leitud.

Tabel 16. Potentsiaalselt segavad ained

Potentsiaalselt segav aine	Kontsentratsioon
Ciprofloxacín-ratiopharm® 500 mg õhukese polümeerikattega tabletid (tsiprofloksatsiin)	0,375% [v/v]
Etanool	5% eluaadi alusel
Guanidiiniumvesinikkloriid	5% eluaadi alusel
Inimveri	5% [v/v]
Mutsiinid	5% [v/v]
Steariinhape/palmitiinhape	40% [v/v]

Ristreaktsioonid

Uuriti erinevaid organisme (bakterid, parasiidid ja viirused), mida tavaliselt väljaheite maatriksis leidub. Selle analüüsi jaoks uuritavad mikroorganismid valiti seetõttu, et neid leidub väljaheiteproovides loomulikult või need põhjustavad seedetrakti patogeenidena vastavaid sümptomeid. Analüüsiks kasutati bakterikultuure (vahemikus 10^7 kuni 10^9 CFU/mL) ja seenekultuure või viiruse isolaate (positiivsetest väljaheiteproovidest) vastavate organismide puhul.

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II reaajas läbiviidav multipleksne PCR-analüüs on spetsiifiline noroviirus GI ja noroviirus GII suhtes. Ristreaktsioone järgmiste liikidega ei tuvastatud (vt tabelit 17).

Tabel 17. Potentsiaalselt ristreaktiivsed organismid.

Organism	Testitulemus*	
	Noroviirus GI	Noroviirus GII
Adenoviirus	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-
<i>Arcobacter butzleri</i>	-	-
Astroviiirus	-	-
<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>	-	-

Rotaviirus	-	-
<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 Täpsus

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II reaalajas PCR-i täpsus määrati järgmiste kaalutlustasemetega jaoks.

Testisisene täpsus: 5 kontrollproovi määramine 20 kordusanalüüsiga seadmel RIDA®UNITY identsetes tingimustes.

Testidevaheline täpsus: 5 kontrollproovi määramine 20 tsüklis 10 tööpäeva jooksul (2 tsüklit päevas), mida teevad erinevad tehnikud korratavates tingimustes.

Testide-*sisese ja -vahelise* täpsuse kontrollimiseks kasutati kolme erinevat partiid.

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II reaalajas PCR-testiga tehtud vastavate mõõtmiste variatsioonikoefitsiendid ei olnud RIDA®UNITY puhul üle 4,82% ja CFX96™ Dx puhul üle 3,25%.

Tabel 18. Noroviirus GI analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II täpsusandmed (RIDA®UNITY System).

Ct keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline	
	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partiid 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	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tabel 19. Noroviirus GI analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II täpsusandmed (CFX96™ Dx).

Ct keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline	
	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partiid 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	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tabel 20. Noroviirus GII analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II täpsusandmed (RIDA®UNITY System).

Ct keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline	
	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partiid 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	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tabel 21. Noroviirus GII analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II täpsusandmed (CFX96™ Dx).

Ct keskmine väärtus / CV	Analüüsisisene			Analüüsidevaheline			Partiidevaheline	
	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partii 1	Komplekti partii 2	Komplekti partii 3	Komplekti partiid 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	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne	Negatiivne
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Analüütiline reaktiivsus

Analüüsi RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR reaktiivsust uuriti genogruppide I ja II eri noroviiruse genotüüpide määratletud paneelil (vt tabelit 22).

Tabel 22. Analüütilise reaktiivsuse analüüsimine

Tüvi	Tulemus*	
	Noroviirus GII	Noroviirus GI
Noroviirus P31-GII4 Sydney	+	-
Noroviirus GII.P4 New Orleans / GII.4 Sydney	+	-
Noroviirus GII.P16-GII.4 Sydney	+	-
Noroviirus GII.P16-GII.2	+	-
Noroviirus GII.P31-GII.4 Sydney	+	-
Noroviirus GII.7	+	-
Noroviirus GI.3	-	+

* + = positiivne (vähemalt kaks kolmest kordusmääramisest positiivsed)










- = negatiivne

14. Versiooniajalugu





Versiooni number	Jaotis ja tähistus
2022-08-09	Väljaande versioon

15. Sümbolite selgitus

Üldised sümbolid

	<i>In vitro</i> diagnostiliseks kasutamiseks
	Järgige kasutusjuhendit
	Partiinumber
	Kasutada enne
	Säilitamistemperatuur
	Artikli number
	Analüüside arv
	Tootmiskuupäev
	Tootja

Analüüsipõhised sümbolid

	Reaktsioonisegu
	Ensüümisegu
	Negatiivne kontrollmaterjal
	Positiivne kontrollmaterjal

16. Viited

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).