

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



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

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



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. Le test RIDA®UNITY Norovirus I & II, réalisé sur la plateforme RIDA®UNITY, est une RT-PCR en temps réel multiplexe pour la détection qualitative directe et la différenciation de l'ARN de norovirus des génogroupes I (GI) et II (GII) dans des échantillons de selles humaines non traitées provenant de personnes présentant des signes et symptômes de gastroentérite aiguë.

Le test RIDA®UNITY Norovirus I & II est destiné à soutenir le diagnostic différentiel des infections par norovirus des génogroupes I (GI) et II (GII) chez des patients présentant des symptômes de gastroentérite conjointement à d'autres résultats cliniques et de laboratoire.

Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par norovirus et ne doivent pas être utilisés comme seule base de diagnostic.

Ce produit est destiné à un usage professionnel.

2. Résumé et explication du test

Les norovirus sont l'une des causes les plus fréquentes de gastroentérite non bactérienne dans le monde, quel que soit le groupe d'âge, et sont à l'origine de 70 000 à 200 000 décès par an.⁽¹⁾ Ils sont responsables d'environ 20 % de tous les cas de gastroentérite aiguë dans le monde. Les norovirus humains, anciennement appelés virus de Norwalk, ont été identifiés pour la première fois en 1972 dans des échantillons de selles prélevés au cours d'une épidémie de gastroentérite à Norwalk, dans l'Ohio (États-Unis), ce qui a permis de les considérer comme les premiers agents pathogènes viraux dont il est prouvé qu'ils causent la gastroentérite.⁽²⁾ Les norovirus appartiennent à la famille des *Caliciviridae* et sont de petits virus sans enveloppe à ARN simple brin (ARNsb). Sur la base des séquences génétiques de l'ARN polymérase ARN-dépendante et de la protéine de capsid du virus, les norovirus sont divisés en 10 génogroupes (GI à GX) avec actuellement plus de 49 génotypes différents (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI, et 1 génotype chacun pour GVII, GVIII, GIX [anciennement GII.15] et GX) et des souches très diverses. Les génogroupes GI, GII et parfois GIV sont les plus importants en termes de pathogénicité pour l'être humain.⁽¹⁾ Aux États-Unis, plus de 99 % de toutes les épidémies de norovirus sont causées par les virus GI et GII.⁽³⁾ La gastroentérite due aux norovirus est souvent causée par la présence de virions dans les selles et les vomissements, alors qu'il suffit de 10 particules infectieuses pour provoquer la maladie. Leur grande stabilité environnementale et leur faible dose infectieuse rendent les norovirus très transmissibles.⁽⁴⁾ Les symptômes typiques des infections à norovirus sont la diarrhée, les vomissements et les nausées.⁽³⁾

3. Principe du test

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR est un test PCR de diagnostic moléculaire pour la détection qualitative directe et la différenciation de l'ARN des génogroupes GI et GII de norovirus dans les échantillons de selles humaines. Le traitement est entièrement automatisé avec le système RIDA®UNITY. Tout d'abord, les acides nucléiques sont extraits à l'aide du RIDA®UNITY Universal Extraction Kit et du Internal Control Kit. La séquence cible est détectée dans un format de RT-PCR en temps réel en une seule étape : la transcription inverse (RT) et la PCR ultérieure se produisent dans le même flacon de réaction. Pendant le processus, l'ARN isolé est transcrit en ADNc à l'aide de la transcriptase inverse. Les fragments de gènes spécifiques aux norovirus GI et GII/GIV sont ensuite amplifiés par PCR en temps réel.

Les séquences cibles amplifiées (région de jonction ORF1/ORF2) sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse marquées avec un extincteur à une extrémité et avec un colorant fluorescent indicateur (fluorophore) à l'autre extrémité. Les sondes s'hybrident avec l'amplicon en présence d'une séquence cible. Pendant l'extension, la Taq-Polymerase sépare l'indicateur de l'extincteur. L'indicateur émet un signal fluorescent qui est détecté par l'unité optique d'un dispositif de PCR en temps réel. Le signal fluorescent augmente avec la quantité d'amplicons formés. Le RIDA®UNITY Internal Control Kit doit être utilisé en même temps pour pouvoir vérifier la préparation de l'échantillon et/ou l'inhibition potentielle de la PCR.

4. Contenu du paquet

Les réactifs fournis dans le kit permettent de réaliser 96 déterminations.*

Tableau 1 : Contenu du paquet

RÉF.	Réactif	Quantité		Couleur du bouchon
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1 935 µL	jaune, prêt à l'emploi
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	rouge, prêt à l'emploi
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	bleu, prêt à l'emploi
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	blanc, prêt à l'emploi

* En cas d'utilisation répétée et en petites séries, le nombre de réactions peut être réduit.

5. Instructions de conservation des réactifs

- Respecter les consignes de manipulation figurant dans le tableau 2 et stocker le kit directement après utilisation conformément aux instructions.
- Tous les réactifs doivent être conservés à l'abri de la lumière, à une température comprise entre -16 et -28 °C et, s'ils ne sont pas ouverts, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette. La garantie de qualité n'est plus valable après la date de péremption.
- Tous les réactifs doivent être soigneusement décongelés avant leur utilisation (par exemple, dans un réfrigérateur entre 2 et 8 °C).
- La congélation et la décongélation répétées jusqu'à 8 fois n'affectent pas les propriétés du test.

Tableau 2 : Informations et conditions de conservation

	Température de conservation	Durée maximale de conservation
non ouvert	-16 à -28 °C	Utilisable jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette
ouvert	-16 à -28 °C	8 cycles de congélation-décongélation

6. Réactifs requis, mais non fournis

Le test RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR est destiné exclusivement à être utilisé avec le système RIDA®UNITY. Les produits suivants sont absolument requis pour une utilisation correcte :

6.1 Réactifs

Les réactifs suivants sont nécessaires pour l'exécution du test RIDA®UNITY Norovirus I & II :

Réactifs	Numéro d'article
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Matériel de laboratoire

Le matériel suivant est nécessaire pour l'exécution du test RIDA®UNITY Norovirus I & II :

Matériel
Système RIDA®UNITY ; numéro d'article : ZUNITY (R-Biopharm AG)
Consommables RIDA®UNITY (pointes, plaques, flacons de réaction, films). Voir le mode d'emploi du système RIDA®UNITY pour les informations relatives à la commande des consommables.
Agitateur-mélangeur vortex
Centrifugeuse de table
Gants jetables non poudrés
Cycleur externe (amélioration possible du système)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

Le kit RIDA®UNITY Norovirus I & II peut être utilisé avec d'autres cycleurs compatibles. Les autres instruments de PCR en temps réel doivent être vérifiés/validés par l'utilisateur. Veuillez contacter R-Biopharm AG par e-mail à pcr@r-biopharm.de pour vérifier la compatibilité.

7. Mesures de précaution

Pour usage diagnostique *in vitro*.

Ce test doit être réalisé uniquement par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux.

Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre.

Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec des plaies et des membranes muqueuses.

Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test.

Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons.

Éviter de contaminer les échantillons et les composants du kit avec des microbes et des nucléases (DNase/RNase).

Les échantillons cliniques doivent être considérés comme du matériel potentiellement infectieux, de même que tous les réactifs et le matériel exposés à des échantillons potentiellement infectieux, et doivent être éliminés comme il se doit. Ne pas échanger ou combiner les composants (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) d'un lot d'un kit avec les composants d'un autre lot.

Le kit de test peut être utilisé pendant 8 semaines après sa première ouverture (le kit peut être rechargé jusqu'à 6 fois). Ne pas utiliser le kit de test après sa date de péremption. Ces spécifications sont également vérifiées par le système RIDA®UNITY.

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de l'élimination correcte de tous les réactifs et matériaux. Pour l'élimination, respecter les règlements nationaux.

De plus amples informations sur la fiche de données de sécurité (Safety Data Sheet, SDS) sont disponibles sous le numéro d'article à l'adresse suivante <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Pour les utilisateurs de l'Union européenne : signaler tout événement indésirable grave associé au produit à R-Biopharm AG et aux autorités nationales compétentes.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais pour obtenir les meilleures performances du test RIDA®UNITY Norovirus I & II.

Éviter de congeler et décongeler l'échantillon plusieurs fois.

Les échantillons de selles ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant des conservateurs, du sérum animal, des ions métal, des agents oxydants ou des détergents car ces substances peuvent interférer avec les tests RIDA®UNITY.

Il est recommandé de préparer des aliquotes des échantillons pour éviter des cycles répétés de décongélation/congélation. Les échantillons congelés doivent être décongelés immédiatement avant extraction pour éviter toute dégradation des acides nucléiques.

Respecter les instructions de stockage des échantillons dans les tableaux 3 à 6.

Tableau 3 : Conservation des échantillons - détection des norovirus GI

Échantillons de selles natifs		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/ -80 °C
≤ 7 jours	≤ 9 jours	≤ 6 mois

Dans l'éluat (des selles)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 heures	≤ 36 heures	≤ 1 mois

En cas de conservation entre -20 et -80 °C, la congélation/décongélation répétée des échantillons de selles jusqu'à 5 fois n'affecte pas les propriétés du test.

En cas de conservation à -20 °C, la congélation/décongélation répétée de l'éluat (des selles) jusqu'à 3 fois n'affecte pas les propriétés du test.

Tableau 4 : Conservation des échantillons - détection des norovirus GII

Échantillons de selles natifs		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20/ -80 °C
≤ 7 jours	≤ 9 jours	≤ 6 mois

Dans l'éluat (des selles)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 heures	≤ 36 heures	≤ 1 mois

En cas de conservation entre -20 et -80 °C, la congélation/décongélation répétée des échantillons de selles jusqu'à 5 fois n'affecte pas les propriétés du test.

En cas de conservation à -20 °C, la congélation/décongélation répétée de l'éluat (des selles) jusqu'à 3 fois n'affecte pas les propriétés du test.

8.1 Préparation de l'ADN à partir d'échantillons de selles

Pour isoler l'ADN des échantillons de selles, utiliser le RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Suivre les procédures correctes dans le mode d'emploi du RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (section : Préparation de l'acide nucléique à partir d'échantillons de selles).

9. Réalisation du test

Placer les échantillons et les réactifs du kit RIDA®UNITY Norovirus I & II sur le système RIDA®UNITY au début de l'utilisation.

Au préalable, mélanger correctement le **Reaction Mix**, **Negative Control**, et **Positive Control** au vortex. Ne pas mélanger le **Enzyme Mix** au vortex. Ensuite, centrifuger brièvement tous les composants.

Les tubes PCR des échantillons à analyser doivent être positionnés au préalable dans le cycleur PCR intégré.

Des supports sont disponibles pour charger correctement les réactifs et les consommables dans le système. Pour le processus de chargement, respecter les instructions du système RIDA®UNITY. Consulter les sections pertinentes du manuel du système RIDA®UNITY (section : Réalisation d'une analyse).

Le test RIDA®UNITY Norovirus I & II ne peut être utilisé qu'en combinaison avec le RIDA®UNITY Internal Control Kit. Cela permet de reconnaître rapidement une inhibition potentielle de la PCR, de vérifier l'intégrité des réactifs et de confirmer la réussite de l'extraction des acides nucléiques. La procédure est décrite dans le mode d'emploi du RIDA®UNITY Internal Control Kit (section : Réalisation du test).

Le traitement automatique est décrit dans le manuel du système RIDA®UNITY (section : Réalisation d'une analyse).

9.1 Réglages du dispositif

9.1.1 Profil universel de PCR en temps réel

Pour harmoniser les tests RIDA®UNITY, le test RIDA®UNITY Norovirus I & II a été vérifié par rapport au profil universel. Il est ainsi possible de combiner les tests ADN et ARN entre eux. En général, la transcription inverse arrive donc en premier dans le profil universel.

Tableau 7 : Profil PCR en temps réel universel pour RIDA®UNITY

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	10 s, 95 °C
Hybridation/extension	15 s, 60 °C
Vitesse de transition / vitesse de montée de température	Maximum

Remarque : L'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

Tableau 8 : Profil universel de PCR en temps réel pour CFX96™ Dx

<u>Transcription inverse</u>	10 min, 58 °C
Dénaturation initiale	1 min, 95 °C
Cycles	45 cycles
<u>PCR</u> Dénaturation	15 s, 95 °C
Hybridation/extension	30 s, 60 °C
Vitesse de transition / vitesse de montée de température	Maximum

Remarque : L'hybridation et l'extension se produisent au cours de la même étape.

9.2 Réglage du canal de détection

Tableau 9 :Sélection des canaux de détection adéquats

Instrument de PCR en temps réel	Détection	Canal de détection	Remarque
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK channel GGII
	Contrôle interne	HEX	SEEK channel ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK channel GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK channel GGII
	Contrôle interne	VIC	SEEK channel ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK channel GGI

10. Contrôle qualité - signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

Les échantillons sont évalués à l'aide du logiciel d'analyse RIDA®SEEK du système RIDA®UNITY. Le **Negative Control** et le **Positive Control** doivent afficher les résultats appropriés (voir tableau 9).

Le **Positive Control** est présent à une concentration de 10^3 copies/ μ L. Chaque analyse de PCR utilise une quantité totale de 5×10^3 copies.

Le **Negative Control** contient déjà le contrôle interne RIDA®UNITY. Comme les contrôles ne contiennent pas de matrice, aucun signal n'est à prévoir dans les canaux cibles. Des signaux positifs dans le canal IC avec lequel le contrôle interne est détecté sont indispensables (voir tableau 10).

Tableau 10 : Pour être valide, une analyse de PCR doit remplir les conditions suivantes :

Échantillon	Résultat	IC Ct	Ct gène cible
Contrôle positif	+	S/O*	Voir le certificat d'analyse (Certificate of Analysis, CoA)
Contrôle négatif	-	Ct > 20	0

*Dans certaines circonstances, le canal IC peut avoir un signal positif dans le contrôle positif et ne doit donc pas être évalué.

Si le contrôle positif n'est pas dans la plage de Ct spécifiée, mais que le contrôle négatif est valide, toutes les réactions doivent être de nouveau analysées lors de la PCR, y compris les contrôles.

Si le contrôle négatif n'est pas négatif, mais que le contrôle positif est valide, toutes les réactions doivent être de nouveau analysées lors de la PCR, y compris les contrôles.

Si les valeurs spécifiées ne sont pas obtenues, vérifier les points suivants avant de renouveler le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé
- Procédure de test correcte

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir renouvelé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

Les échantillons sont évalués et interprétés à l'aide du logiciel d'analyse du système RIDA®UNITY, RIDA®SEEK.

Il n'existe actuellement aucune méthode de référence ou aucun matériau de référence reconnu au niveau international pour la normalisation. La traçabilité métrologique des matériaux de contrôle par rapport aux étalons internes de R-Biopharm AG repose sur des amplicons d'ARN spécifiques.

Pour de plus amples informations sur la traçabilité métrologique, veuillez contacter R-Biopharm AG.

Les valeurs spécifiées, plages et autres précisions figurent sur le certificat d'analyse (Certificate of Analysis, CoA).

Tableau 11 : Interprétation des résultats*

Détection de			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Résultat
+	-	+/-	Norovirus GII ¹ détectable
-	+	+/-	Norovirus GI détectable
+	+	+/-	Norovirus GII ¹ et norovirus GI détectables
-	-	+	Les gènes cibles ne sont pas détectables
-	-	-	Non valide

*+ = positif

- = négatif

¹ Voir Limites de la méthode (section 10)

Un échantillon est positif si l'ARN de l'échantillon et le **Internal Control** présentent un signal d'amplification dans le système de détection.

Un échantillon est également positif si l'ARN de l'échantillon présente un signal d'amplification dans le système de détection, mais qu'aucun signal n'est présent pour le **Internal Control**. La détection du **Internal Control** n'est pas indispensable dans ce cas, car les concentrations élevées d'amplicons peuvent provoquer un signal faible ou absent du **Internal Control**.

Un échantillon est négatif si l'ARN de l'échantillon ne présente pas de signal d'amplification dans le système de détection, mais que le **Internal Control** présente un signal visible. Une inhibition de la réaction de PCR peut être exclue par la détection du **Internal Control**.

Un échantillon est non valide si l'ARN de l'échantillon et le Internal Control ne présentent aucun signal d'amplification dans le système de détection. Des inhibiteurs sont présents dans l'échantillon ou une erreur est survenue pendant le processus d'extraction.

12. Limites de la méthode

1. Le test RIDA[®]UNITY Norovirus I & II détecte l'ARN du norovirus GI et du norovirus GII dans les échantillons de selles humaines non traitées. Ce test ne permet pas d'établir de rapport entre la valeur de Ct mesurée et la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés au regard des symptômes cliniques dans leur ensemble.
2. Le diagnostic ne doit pas reposer uniquement sur le résultat du test de biologie moléculaire. Il doit toujours tenir compte des antécédents médicaux et des symptômes du patient.
3. Ce test est approuvé uniquement pour un traitement automatisé utilisant le système RIDA[®]UNITY.
4. Ce test est seulement vérifié et validé pour les échantillons de selles.
5. Un prélèvement, transport, stockage et traitement incorrect de l'échantillon ou une charge en agents pathogènes inférieure à la sensibilité analytique du test peuvent entraîner des résultats faux négatifs.
6. La présence d'inhibiteurs de la PCR peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides.
7. À l'instar de tous les tests de diagnostic *in vitro* basés sur la PCR, des concentrations extrêmement faibles des séquences cibles sous la limite de détection (LoD 95 %) peuvent être détectées, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
8. Des mutations ou polymorphismes au niveau des sites de liaison des amorces ou des sondes peuvent empêcher la détection de nouveaux variants ou de variants inconnus et entraîner des résultats faux négatifs avec le test RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
9. Un résultat positif du test ne signifie pas nécessairement que des organismes viables sont présents. Un résultat positif indique que les gènes cibles (norovirus GI et GII, région de jonction ORF1/ORF2) sont présents.
10. Les norovirus du génogroupe IV, qui, dans de très rares cas, peuvent également infecter l'homme, sont également détectés à l'aide du test RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
11. Ce test doit être réalisé conformément aux BPL (Bonnes pratiques de laboratoire). Les utilisateurs doivent suivre scrupuleusement les instructions du fabricant lors de la réalisation du test.

13. Performances

13.1 Performances cliniques

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR a été comparé dans un laboratoire externe avec un test de référence avec un marquage CE à partir de 237 échantillons de selles provenant de patients présentant des symptômes d'infection gastro-intestinale.

Les résultats montrent une sensibilité et une spécificité élevées pour la détection des norovirus GI ou GII dans les échantillons de selles humaines.

Tableau 12 : Détection de norovirus GI

		PCR de référence		Total
		Positif	Négatif	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Positif	33	0	33
	Négatif	3	201	204
	Total	36	201	237

Sensibilité relative (IC 95 %)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Spécificité relative (IC 95 %)	100 % (98,2 % - 100 %)

Tableau 13 : Détection du norovirus GII

		PCR de référence		Total
		Positif	Négatif	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Positif	126	0	126
	Négatif	4	107	111
	Total	130	107	237

Sensibilité relative (IC 95 %)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Spécificité relative (IC 95 %)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2 Performances analytiques

13.2.1 Limite de détection (LoD 95 %)

Un échantillon positif (groupe d'échantillons négatifs, enrichi d'échantillons de selles cliniques positives) a été mesuré en cinq étapes de dilution (par étapes de 0,25 log) pour chaque cible, avec 20 réplicats par étape dans un lot, afin de déterminer la LoD. Cette analyse a été suivie d'une analyse probit. La LoD calculée a ensuite été confirmée à l'aide de 20 réplicats par cible pour l'étape de dilution/concentration calculée.

Pour la détection de l'ARN des norovirus GI et GII en utilisant le test RIDA®UNITY Norovirus I & II sur le système UNITY, les limites de détection (LoD) suivantes ont été déterminées.

Les résultats de ces mesures sont indiqués dans le tableau 15.

Tableau 15 : Résultats des limites de détection du test RIDA®UNITY Norovirus I & II pour les paramètres norovirus GI et norovirus GII dans les échantillons de selles

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4,85 E-04 [facteur de dilution]**	5,98 E-05 [facteur de dilution]*

(*) Dilution relative de la concentration de la solution mère. Échantillon clinique positif dont la plage de Ct est comprise entre 26 et 27

(**) Dilution relative de la concentration de la solution mère. Échantillon clinique positif dont la plage de Ct est comprise entre 30 et 31

Pour le paramètre norovirus GI dans des échantillons de selles, la LoD a été déterminée à 4,85 E-04 [facteur de dilution].

Pour le paramètre norovirus GII dans les échantillons de selles, la LoD a été déterminée à 5,98 E-05 [facteur de dilution].

Pour le flux de travail amélioré utilisant le CFX96™ Dx, ces valeurs de LoD ont été confirmées en supposant de rester dans une fourchette de 2 à 3 fois la plage de la LoD.

13.2.2 Spécificité analytique

Substances interférentes

La présence d'inhibiteurs de la PCR et de substances interférentes peut donner lieu à des résultats faux négatifs ou non valides. De ce fait, les effets de diverses substances ont été étudiés, compte tenu de leur utilisation répandue en cas d'infections gastro-intestinales ou de leur présence répandue dans les échantillons correspondants.

Les substances susceptibles d'influencer de manière significative les résultats des tests ont été examinées dans un premier temps à des concentrations élevées (le triple de la dose quotidienne ou la simulation du pire cas) dans un test d'interférence. Aucune interférence n'a été identifiée pour les substances figurant dans le tableau 16.

Tableau 16 : Substances potentiellement interférentes

Substance potentiellement interférente	Concentration
Ciprofloxacine-ratiopharm® 500 mg comprimés pelliculés (ciprofloxacine)	0,375 % [p/v]
Éthanol	5 % par rapport à l'éluat
Chlorhydrate de guanidinium	5 % par rapport à l'éluat
Sang humain	5 % [v/v]
Mucines	5 % [p/v]
Acide stéarique/acide palmitique	40 % [p/v]

Réactions croisées

Divers organismes (bactéries, parasites et virus) que l'on trouve couramment dans la matrice des selles ont été étudiés. Les micro-organismes étudiés dans le cadre de ce test ont été sélectionnés soit en raison de leur présence naturelle dans les échantillons de selles, soit en raison des symptômes qu'ils provoquent en tant que pathogènes gastro-intestinaux. Pour les analyses, on a utilisé des cultures de bactéries (entre 10^7 et 10^9 CFU/mL) et de champignons ou des isolats de virus (provenant d'échantillons de selles positifs) pour les organismes respectifs.

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR est spécifique aux norovirus GI et GII. Aucune réactivité croisée avec les substances suivantes n'a été décelée (voir tableau 17) :

Tableau 17 : Organismes à réaction croisée potentielle

Organisme	Résultat du test*	
	Norovirus GI	Norovirus GII
Adénovirus	-	-
<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>	-	-
Rotavirus	-	-
<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 Précision

La précision du test RIDA®UNITY Norovirus I & II real-time PCR a été déterminée pour les niveaux de considération suivants.

Précision *intra*-essai : déterminée sur 5 échantillons de contrôle avec 20 réplicats chacun sur le RIDA®UNITY dans des conditions identiques.

Précision *inter*-essais : déterminée sur 5 échantillons de contrôle testés en double au cours de 20 analyses réalisées sur 10 jours (2 analyses par jour) sur différents instruments et dans des conditions reproductibles.

Les tests de précision *intra*-essai et *inter*-essais ont été réalisés à l'aide de trois lots différents.

Les coefficients de variation obtenus pour les mesures respectives effectuées à l'aide du test RIDA®UNITY Norovirus I & II real-time PCR n'étaient pas supérieurs à 4,82 % sur le RIDA®UNITY et pas supérieurs à 3,25 % sur le CFX96™ Dx.

Tableau 18 : Résultats de la précision du test RIDA®UNITY Norovirus I & II pour les norovirus GI (système RIDA®UNITY)

Valeur Ct moyenne/ CV	<i>Intra</i> -essai			<i>Inter</i> -essais			<i>Inter</i> -lots	
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 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	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tableau 19 : Résultats de la précision du test RIDA®UNITY Norovirus I & II pour les norovirus GI (CFX96™ Dx)

Valeur Ct moyenne/ CV		Intra-essai			Inter-essais			Inter-lots
		Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 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	Négatif						
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tableau 20 : Résultats de la précision du test RIDA®UNITY Norovirus I & II pour les norovirus GII (système RIDA®UNITY)

Valeur Ct moyenne/ CV	<i>Intra-essai</i>			<i>Inter-essais</i>			<i>Inter-lots</i>	
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 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	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

Tableau 21 : Résultats de la précision du test RIDA®UNITY Norovirus I & II pour les norovirus GII (CFX96™ Dx)

Valeur Ct moyenne/ CV	<i>Intra-essai</i>			<i>Inter-essais</i>			<i>Inter-lots</i>	
	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lot du kit 1	Lot du kit 2	Lot du kit 3	Lots des kits 1 à 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	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Réactivité analytique

La réactivité du test RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR a été évaluée par rapport à un panel défini de différents génotypes de norovirus des génogroupes I et II (voir tableau 22).

Tableau 22 : Test de la réactivité analytique

Souche	Résultat*	
	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	-	+

*+ = positif (au moins 2 réplicats positifs sur 3)

- = négatif

14. Historique des versions

Numéro de version	Section et désignation
2022-08-09	Version de la publication

15. Signification des symboles

Symboles généraux

	Pour usage diagnostique <i>in vitro</i>
	Consulter le mode d'emploi
	Numéro de lot
	Date de péremption
	Température de conservation
	Numéro d'article
	Nombre de tests
	Date de fabrication
	Fabricant

Symboles spécifiques aux tests

	Mélange réactionnel
	Mélange d'enzymes
	Contrôle négatif
	Contrôle positif

16. Références

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).