

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



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

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



1. Javasolt alkalmazás

In vitro diagnosztikai alkalmazásra. A RIDA®UNITY platformon végzett RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt egy multiplex valós idejű RT-PCR az I-es genocsoportba (GI) és a II-es genocsoportba (GII) tartozó norovírusokból származó RNS közvetlen kvalitatív kimutatására és differenciálására olyan kezeletlen humán székletmintákban, amelyek akut gasztroenteritisz tüneteit mutató személyektől származnak.

A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt célja az I-es genocsoportba (GI) és a II-es genocsoportba (GII) tartozó norovírus-fertőzés differenciáldiagnózisának támogatása a gasztroenteritisz tüneteit mutató betegeknél, egyéb klinikai és laboratóriumi leletekkel összefüggésben.

A negatív eredmény nem zárja ki a norovírus-fertőzést, és nem használható a diagnózis kizárólagos alapjául.

A terméket kizárólag szakemberek használhatják.

2. A vizsgálat magyarázata és leírása

A norovírusok a nem bakteriális gasztroenteritisz egyik leggyakoribb okai a világon minden korcsoportban, és évente mintegy 70 000-200 000 ember halálát okozzák⁽¹⁾. Világszerte az akut gasztroenteritiszes esetek mintegy 20%-áért felelősek. A humán norovírusokat, korábbi nevükön Norwalk-vírusokat először 1972-ben azonosították az Amerikai Egyesült Államokban, az Ohio állambeli Norwalkban kitört gasztroenteritisz-járvány során gyűjtött székletmintákban, ezeket a vírusokat tekintik az első olyan vírusos kórokozóknak, amelyek bizonyítottan gasztroenteritist okoznak⁽²⁾.

A norovírusok a *Caliciviridae* családba tartoznak, és kis, burokkal nem rendelkező, egyszálú RNS-t (ssRNS) tartalmazó vírusok. A vírus RNS-függő RNS-polimerázának és a kapszidfehérjének a genetikai szekvenciája alapján a norovírusokat 10 genocsoportra (GI-GX) osztják, jelenleg több mint 49 különböző genotípussal (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI, valamint a GVII, GVIII, GIX [korábban GII.15] és GX egy-egy genotípusa) és különböző törzsekkel. A GI, GII és esetenként a GIV genocsoportok a legfontosabbak az emberi patogenitás szempontjából⁽¹⁾. Az Amerikai Egyesült Államokban a norovírusos járványok több mint 99 %-át GI- és GII-vírusok okozzák⁽³⁾. A norovírusok okozta gasztroenteritist gyakran a székletben és a hányásban lévő vírusok terjesztik, mivel a betegség kialakulásához mindössze 10 fertőző részecske szükséges. A norovírusok nagyfokú környezeti stabilitása és alacsony fertőző dózisa miatt a norovírusok nagymértékben átvihetők⁽⁴⁾. A norovírusos fertőzés jellemző tünetei a hasmenés, hányás és hányinger⁽³⁾.

3. A vizsgálat elve

A RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex valós idejű RT-PCR egy molekuláris diagnosztikai PCR az I-es genocsoportba (GI) és a II-es genocsoportba (GII), valamint a GIV genocsoportba tartozó norovírusokból származó RNS közvetlen kvalitatív kimutatására és differenciálására humán székletmintákban. A feldolgozás teljesen automatizáltan, a RIDA®UNITY System rendszerrel történik. Először a nukleinsavakat a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit és az Internal Control Kit segítségével extraháljuk. A célszekvencia kimutatása egy lépéses valós idejű RT-PCR formátumban történik, azaz a reverz transzkripció (RT) és az azt követő PCR egy reakcióüvegben zajlik. A folyamat során az izolált RNS-t reverz transzkriptáz segítségével cDNS-sé írják át. A norovírus GI és GII/GIV specifikus génfragmentumokat ezután valós idejű PCR segítségével amplifikálják. Az amplifikált célszekvenciákat (ORF1/ORF2 kapcsolódási régió) a hidrolízispróbák segítségével detektálják, amelyek egyik végükön egy csillapítóval, a másik végükön pedig egy fluoreszcens jelzőfestékkel (fluorofór) vannak jelölve. A próbák a célszekvencia jelenlétében hibridizálódnak az amplikonhoz. A lánchosszabbodás során a Taq polimeráz elválasztja a jelzőt a csillapítótól. A jelző fluoreszcens jelet bocsát ki, amelyet a valós idejű PCR-készülék optikai egysége érzékel. A fluoreszcens jel a képződött amplikonok mennyiségével növekszik. A RIDA®UNITY Internal Control Kit készletet egyidejűleg kell használni, hogy ellenőrizni lehessen a minta előkészítését és/vagy az esetleges PCR-gátlást.

4. Rendelkezésre bocsátott reagensek

A készletben lévő reagensek 96 meghatározáshoz elegendőek.*

1. táblázat: Rendelkezésre bocsátott reagensek

REF	Reagens	Mennyiség		Fedél színe
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	sárga, használatra kész
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	piros, használatra kész
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	kék, használatra kész
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	fehér, használatra kész

*Ismételt használat esetén és kisebb sorozatokban a reakciók száma csökkenhet.

5. Tárolási utasítások

- Kérjük, kövesse a 2. táblázatban szereplő kezelési útmutatót, és a készletet közvetlenül a használat után a megadott információknak megfelelően tárolja.
- Minden reagenst fénytől védve, -16 és -28 °C között kell tárolni, és ha bontatlanok, a címkén feltüntetett lejárati dátumig felhasználhatók. A minőségi garancia a lejárati dátum után már nem érvényes.
- Minden reagenst felhasználás előtt gondosan fel kell olvasztani (pl. hűtőszekrényben, 2 - 8 °C-on).
- A legfeljebb 8-szori ismételt fagyasztás és felolvasztás nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

2. táblázat: Tárolási feltételek és információk

	Tárolási hőmérséklet	Maximális tárolási idő
bontatlan állapotban	-16 és -28 °C között	A nyomtatott lejárati dátumig használható
bontott állapotban	-16 és -28 °C között	8 lefagyasztási-felolvasztási ciklus

6. Szükséges, de nem biztosított reagensek

A RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex valós idejű RT-PCR teszt kizárólag a RIDA®UNITY System rendszerrel való használatra szolgál. A helyes használathoz feltétlenül szükségesek a következő termékek:

6.1. Reagensek

A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt elvégzéséhez a következő reagensek szükségesek:

Reagensek	Tételszám
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2. Laboratóriumi felszerelés

A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt elvégzéséhez a következő felszerelésekre van szükség:

Felszerelés
RIDA®UNITY System rendszer; cikkszám: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY fogyóeszközök (hegyek, lemezek, reakcióüvegek, filmek). Lásd a RIDA®UNITY System rendszer használati utasítását, a fogyóeszközök rendelési információit.
Vortex-keverő
Asztali centrifuga
Hintőpormentes eldobható kesztyű
Külső PCR-készülék (lehetséges rendszerfejlesztés)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

ARIDA®UNITY Norovirus I & II készletek más kompatibilis készülékekkel együtt használhatók. Az alternatív valós idejű PCR-eszközöket a felhasználónak kell ellenőriznie/hitelesítenie. A kompatibilitás ellenőrzése érdekében kérjük, lépjen kapcsolatba az R-Biopharm AG-val a következő címen: pcr@r-biopharm.de.

7. Figyelmeztetések és óvintézkedések a felhasználók számára

In vitro diagnosztikai alkalmazásra.

A vizsgálatot csak képezített laboratóriumi szakszemélyzet végezheti. Az orvosi laboratóriumokban való munkavégzésre vonatkozó irányelveket be kell tartani.

A vizsgálat elvégzésekor mindig szigorúan tartsa be a használati utasítást.

Ne pipettázzon mintákat vagy reagenseket a szájával. Kerülje a sérült bőrrel és nyálkahártyával való érintkezést.

A reagensek és minták kezelésénél viseljen egyéni védőeszközt (megfelelő kesztyűt, laboratóriumi köpenyt, védőszemüveget), és a vizsgálat elvégzése után mosson kezet.

Ne dohányozzon, egyen vagy igyon azokon a területeken, ahol a mintákat kezeli.

Ügyeljen arra, hogy a minták és a készlet összetevői ne szennyeződjenek mikrobákkal és nukleázokkal (DNáz/RNáz).

A klinikai mintákat potenciálisan fertőzőnek kell tekinteni, és megfelelően kell ártalmatlanítani, mint minden olyan reagenst és anyagot, amely potenciálisan fertőző mintákkal érintkezik.

Az egyik készletből származó komponenseket (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) ne cserélje ki és ne keverje össze egy másik készlet komponenseivel.

A tesztkészlet az első felbontás után 8 hétig használható (a készlet legfeljebb 6 alkalommal tölthető újra). A tesztkészletet a lejáratú idő után ne használja fel.

Ezeket az előírásokat a RIDA®UNITY System is ellenőrzi.

Az összes reagens és anyag használat utáni megfelelő ártalmatlanításáért a felhasználók felelősek. Az ártalmatlanítással kapcsolatban kérjük, tartsa be az országos előírásokat.

A biztonsági adatlap (Safety Data Sheet, SDS) további részletei a cikkszám alatt található a következő címen: <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Az Európai Unióban lévő felhasználók számára: Jelentsen minden, a termékkel kapcsolatos súlyos nemkívánatos eseményt az R-Biopharm AG vállalatnak és a megfelelő nemzeti hatóságoknak.

8. A minták levétele és tárolása

A RIDA®UNITY Norovirus I & II vizsgálat legjobb teljesítményének elérése érdekében ajánlott friss mintaanyagot használni.

Kerülje a minta ismételt lefagyasztását és felolvasztását.

Ne gyűjtse a székletmintákat olyan szállítóedényekbe, amelyek tartósítószereket, állati szérumokat, fézionokat, oxidálószereket vagy tisztítószereket tartalmazó szállítóközegeket tartalmaznak, mivel ezek az anyagok zavarhatják a RIDA®UNITY teszteket.

Ajánlott a mintákból alikvotokat készíteni az ismételt felolvasztás és fagyasztás elkerülése érdekében. A fagyasztott mintákat közvetlenül az extrakció előtt fel kell olvasztani a nukleinsavak lebomlásának megelőzése érdekében.

Kövesse a 3-6. táblázatban szereplő mintatárolási utasításokat.

3. táblázat: A minta tárolása - A norovírus GI kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 nap	≤ 9 nap	≤ 6 hónap

Eluátumban (székletből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 1 hónap

-20 /-80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

4. táblázat: A minta tárolása - A norovírus GII kimutatása

Natív minták - széklet		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 nap	≤ 9 nap	≤ 6 hónap

Eluátumban (székletből)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 óra	≤ 36 óra	≤ 1 hónap

-20 /-80 °C-os tárolási hőmérséklet esetén a székletminta legfeljebb 5 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

-20 °C-os tárolási hőmérséklet esetén az eluátum (székletből) legfeljebb 3 alkalommal történő ismételt lefagyasztása/felolvasztása nem befolyásolja a vizsgálati tulajdonságokat.

8.1. DNS-előkészítés székletmintából

A székletmintákból történő DNS-izoláláshoz használja a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit készletet. Kövesse a RIDA®UNITY Universal Extraction Kit használati utasításában leírt helyes eljárásokat (Szakasz: Nukleinsav-előkészítés székletmintákból).

9. Vizsgálati eljárás

A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt mintái és reagensei is a RIDA®UNITY System rendszerre vannak helyezve a használat megkezdésekor.

Előzetesen keverje össze megfelelően a **Reaction Mix** reakcióelegyet, a **Negative Control** negatív kontrollt és a **Positive Control** pozitív kontrollt egy vortex-keverő segítségével. Az **Enzyme Mix** enzimkeveréket ne vortexelje. Ezután rövid ideig centrifugálja az összes komponenst.

A vizsgálandó minták PCR-csőveit előzetesen be kell helyezni az integrált PCR-készülékbe.

A rendszer reagensekkel és fogyóeszközökkel való megfelelő feltöltéséhez hordozók állnak rendelkezésre. A betöltési folyamat során kövesse a RIDA®UNITY System utasításait. Tartsa be a RIDA®UNITY System kézikönyvének vonatkozó szakaszait (Szakasz: Futtatás végrehajtása).

A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt csak a RIDA®UNITY Internal Control Kit készlettel együtt használható. Ez lehetővé teszi a lehetséges PCR-gátlás korai felismerését, a reagens integritásának ellenőrzését és a sikeres nukleinsav-eltávolítás megerősítését. Az eljárást a RIDA®UNITY Internal Control Kit használati utasítása ismerteti (Szakasz: Vizsgálati eljárás).

Az automatizált feldolgozást a RIDA®UNITY System kézikönyve ismerteti (Szakasz: Futtatás végrehajtása).

9.1. Eszköz beállításai

9.1.1. Univerzális valós idejű PCR-profil

A RIDA®UNITY vizsgálatok harmonizálása érdekében a RIDA®UNITY Norovirus I & II vizsgálatot az univerzális profilban ellenőrizték. Ez lehetővé teszi a DNS- és RNS-vizsgálatok egymással való kombinálását. A reverz transzkripció ezért az univerzális profilban általában az első helyen áll.

7. táblázat: Univerzális valós idejű PCR-profil a RIDA®UNITY rendszerhez

<u>Reverz transzkripció</u>	10 perc, 58 °C
Kezdeti denaturáció	1 perc, 95 °C
Ciklusok	45 ciklus
<u>PCR</u> Denaturáció	10 másodperc, 95 °C
Hőkezelés/lánchosszabbítás	15 másodperc, 60 °C
Hőmérséklet-átmeneti sebesség / felmelegedési sebesség	Maximális

Megjegyzés: A hőkezelés és a lánchosszabbítás ugyanabban a lépésben történik.

8. táblázat: Univerzális valós idejű PCR-profil CFX96™ Dx készülékhez

<u>Reverz transzkripció</u>	10 perc, 58 °C
Kezdeti denaturáció	1 perc, 95 °C
Ciklusok	45 ciklus
<u>PCR</u> Denaturáció	15 másodperc, 95 °C
Hőkezelés/lánchosszabbítás	30 másodperc, 60 °C
Hőmérséklet-átmeneti sebesség / felmelegedési sebesség	Maximális

Megjegyzés: A hőkezelés és a lánchosszabbítás ugyanabban a lépésben történik.

9.2. Detektálási csatorna beállítása

9. táblázat: A megfelelő detektálási csatornák kiválasztása

Valós idejű PCR-eszköz	Kimutatás	Detektálási csatorna	Megjegyzés
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK csatorna GGII
	Belső kontroll	HEX	SEEK csatorna ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK csatorna GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK csatorna GGII
	Belső kontroll	VIC	SEEK csatorna ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK csatorna GGI

10. Minőségellenőrzés - a reagensek instabilitásának vagy lejáratának jelzése

A minták kiértékelése a RIDA®UNITY System rendszer RIDA®SEEK analitikai szoftverével történik. A **Negative Control** negatív kontrollnak és a **Positive Control** pozitív kontrollnak a megfelelő eredményeket kell mutatnia (lásd: 9. táblázat).

A **Positive Control** pozitív kontroll 10^3 kópia/ μ L koncentrációban van jelen. Minden PCR-futtatásban összesen 5×10^3 kópiában használják.

A **Negative Control** negatív kontroll már tartalmazza a RIDA®UNITY Internal Control belső kontrollt. Mivel a kontrollok nem tartalmazzak sablont, a célsatornákon nem várható jelek. A pozitív jelek elengedhetetlenek azon az IC-csatornán, amellyel a belső kontrollt érzékelik (lásd: 10. táblázat).

10. táblázat: Az érvényes PCR-futtatásnak a következő feltételeknek kell megfelelnie:

Minta	Eredmény	IC Ct	Ct célgén
Pozitív kontroll	+	N/A*	Lásd: Minőségi bizonylat (Certificate of Analysis, CoA)
Negatív kontroll	-	Ct > 20	0

*Bizonyos körülmények között az IC-csatorna pozitív jelet adhat a pozitív kontrollban, ezért nem kell értékelni.

Ha a pozitív kontroll nem a megadott Ct-tartományon belül van, de a negatív kontroll érvényes, akkor minden reakciót, így a kontrollokat is újra kell elemezni a PCR során.

Ha a negatív kontroll nem negatív, de a pozitív kontroll érvényes, akkor minden reakciót, így a kontrollokat is újra kell elemezni a PCR során.

Ha a megadott értékek nem teljesülnek, a vizsgálat megismétlése előtt ellenőrizze a következő elemeket:

- A használt reagensek lejárat ideje
- A használt berendezések alkalmassága
- Helyes vizsgálati eljárás

Ha a feltételek még a teszt ismételt elvégzése után sem teljesülnek, kérjük, lépjen kapcsolatba a gyártóval vagy a helyi R-Biopharm forgalmazójával.

11. Kiértékelés és értelmezés

A minták kiértékelése és értelmezése a RIDA®UNITY System RIDA®SEEK analitikai szoftverének a segítségével történik.

Jelenleg nincs nemzetközileg elismert referenciamódszer vagy referenciaanyag a standardizáláshoz. A kontrollanyagok mérés technikailag az R-Biopharm AG belső standardjaira vezethetők vissza a specifikus, szintetikus RNS-amplikonok alapján.

A mérés technikai visszavezethetőséggel kapcsolatos további információkért forduljon az R-Biopharm AG vállalathoz.

A megadott értékek, tartományok és további részletek a Minőségi bizonylatban (Certificate of Analysis, CoA) találhatóak.

11. táblázat: Eredmény értelmezése*

A következők kimutatása:			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Eredmény
+	-	+/-	Norovirus GII ¹ kimutatható
-	+	+/-	Norovirus GI kimutatható
+	+	+/-	Norovirus GII ¹ és norovirus GI kimutatható
-	-	+	A célgén nem kimutatható
-	-	-	Érvénytelen

*+ = pozitív

- = negatív

¹ Lásd A módszer korlátai című részt (10. szakasz).

A minta akkor minősül pozitívnak, ha a minta RNS-e és az **Internal Control** belső kontroll amplifikációs jelet mutat a detektáló rendszerben.

Egy minta akkor is pozitív, ha a minta RNS-e amplifikációs jelet mutat, de a detektáló rendszerben az **Internal Control** belső kontroll amplifikációs jele nem található meg. Az **Internal Control** belső kontroll kimutatása ebben az esetben nem szükséges, mivel a magas amplikon-koncentráció azt eredményezheti, hogy az **Internal Control** belső kontroll jele gyenge vagy hiányzik.

Egy minta akkor tekinthető negatívnak, ha a minta RNS-e nem mutat amplifikációs jelet, de a detektáló rendszerben az **Internal Control** belső kontroll amplifikációs jele megtalálható. A PCR-reakció és az előzetes extrakció gátlása kizárható az **Internal Control** belső kontroll kimutatásával.

A minta érvénytelen, ha a minta RNS-e és az Internal Control belső kontroll nem mutat amplifikációs jelet a detektáló rendszerben. A mintában inhibitorok vannak jelen, vagy hiba történt az extrakciós folyamat során.

12. A módszer korlátai

1. A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt a norovírus GI és a norovírus GII RNS-ét mutatja ki kezeletlen emberi székletmintákban. A meghatározott Ct-érték szintje és a súlyos klinikai tünetek előfordulása között ebből nem lehet összefüggést levezetni. A kapott eredményeket mindig a teljes klinikai tünetekkel együtt kell értelmezni.
2. A diagnózis nem alapulhat kizárólag a molekuláris biológiai elemzés eredményén, hanem mindig figyelembe kell venni a beteg kórtörténetét és tüneteit.
3. Ez a vizsgálat kizárólag a RIDA®UNITY System rendszerrel történő automatizált feldolgozásra engedélyezett.
4. Ezt a tesztet csak székletminták esetében ellenőrizték és validálták.
5. A nem megfelelő mintavétel, szállítás, tárolás és kezelés, illetve a teszt analitikai érzékenysége alatti kórokozó-terhelés hamis negatív eredményhez vezethet.
6. A PCR-inhibitorok jelenléte hamis negatív vagy érvénytelen eredményekhez vezethet.
7. Mint minden PCR-alapú *in vitro* diagnosztikai teszt esetében, a célszekvenciák rendkívül alacsony, a kimutatási határérték (LoD 95%) alatti koncentrációja is kimutatható. A kapott eredmények nem mindig reprodukálhatók.
8. A primer vagy a próba kötőhelyein található mutációk vagy polimorfizmusok zavarhatják az új vagy ismeretlen variánsok kimutatását, és hamis negatív eredményekhez vezethetnek a RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt használata esetén.
9. A pozitív teszteredmény nem feltétlenül jelenti életképes organizmusok jelenlétét. A pozitív eredmény azt jelzi, hogy a célgének (norovírus GI és norovírus GII, ORF1/ORF2 kapcsolódási régió) jelen vannak.
10. A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt a IV. genocsoportba tartozó norovírusokat is kimutatja, amelyek nagyon ritka esetben szintén megfertőzhetik az embereket.
11. Ezt a vizsgálatot a helyes laboratóriumi gyakorlatról (GLP) szóló rendeletnek megfelelően kell elvégezni. A felhasználóknak a teszt elvégzésekor pontosan be kell tartaniuk a gyártó utasításait.

13. Teljesítményjellemzők

13.1. Klinikai teljesítményjellemzők

A RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex valós idejű PCR-t egy külső laboratóriumban hasonlították össze egy CE-jelzéssel ellátott referenciateszttel, amely 237, gyomor- és bélrendszeri fertőzés tüneteit mutató beteg székletmintáján alapult.

Az eredmények magas érzékenységet és specifitást mutatnak a norovírus GI vagy GII kimutatására emberi székletmintákban.

12. táblázat: A norovírus GI kimutatása

		Referencia PCR		Összes
		Pozitív	Negatív	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Pozitív	33	0	33
	Negatív	3	201	204
	Összes	36	201	237

Relatív érzékenység (95 %-os CI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Relatív specifitás (95 %-os CI)	100 % (98,2 % - 100 %)

13. táblázat: A norovírus GII kimutatása

		Referencia PCR		Összes
		Pozitív	Negatív	
RIDA®UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Pozitív	126	0	126
	Negatív	4	107	111
	Összes	130	107	237

Relatív érzékenység (95 %-os CI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Relatív specifitás (95 %-os CI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2. Analitikai teljesítményjellemzők

13.2.1. Kimutatási határ (LoD 95%)

Az LoD meghatározásához egy pozitív mintát (negatív székletcsoport, amelyhez pozitív klinikai székletmintát adtak) mértek öt hígítási lépésben (0,25-log lépésekben) minden egyes célpont esetében, egy tételben lépésenként 20 ismétléssel. Ezt követte a probit-elemzés. Ezután a számított LoD-t célpontonként 20 ismétléssel megerősítették a számított hígítási lépés/koncentráció esetében.

A norovírus GI és a norovírus GII RNS kimutatására a RIDA®UNITY Norovirus I & II vizsgálat segítségével a UNITY System rendszeren a következő kimutatási határokat (LoD) határozták meg.

A mérések eredményei a 15. táblázatban láthatók.

15. táblázat: A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt kimutatási határának eredményei a norovírus GI és norovírus GII paraméterek tekintetében székletmintákban

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4,85E-04 [hígítási tényező]**	5,98E-05 [hígítási tényező]*

(*) A törzselegy koncentrációjának relatív hígítása. Pozitív klinikai minta, Ct-tartománya 26 - 27

(**) A törzselegy koncentrációjának relatív hígítása. Pozitív klinikai minta, Ct-tartománya 30 - 31

A székletmintában lévő norovírus GI paraméter LoD értékét 4,85E-04 [hígítási tényező] értékben határozták meg.

A székletmintában lévő norovírus GII paraméter LoD értékét 5,98E-05 [hígítási tényező] értékben határozták meg.

A CFX96™ Dx készülékkel végzett továbbfejlesztett munkafolyamat esetében ezeket a LoD-értékeket megerősítették azzal a feltételezéssel, hogy a 2-3-szoros LoD-tartományban maradunk.

13.2.2. Analitikai specificitás

Zavaró anyagok

A PCR-inhibitorok és zavaró anyagok jelenléte hamis negatív vagy érvénytelen eredményekhez vezethet. Ezért megvizsgálták a különböző anyagok hatásait, a gastrointesztinális fertőzésekre való széles körű használatuk vagy a megfelelő mintákban való széles körű előfordulásuk alapján.

Azokat az anyagokat, amelyek potenciálisan jelentősen befolyásolhatják a vizsgálati eredményeket, kezdetben magas koncentrációban (a napi dózis háromszorosa vagy a legrosszabb eset szimulációja) vizsgálták egy interferenciaszűrés során.

A 16. táblázatban felsorolt anyagok esetében nem találtak interferenciát.

16. táblázat: Potenciálisan zavaró anyagok

Potenciálisan zavaró anyag	Koncentráció
Ciprofloxacin-ratiopharm® 500 mg filmtabletta (ciprofloxacin)	0,375 %[m/v]
Etanol	5% az eluátum alapján
Guanidinium-hidroklorid	5% az eluátum alapján
Emberi vér	5 %[v/v]
Nyálka	5 %[m/v]
Sztearin-/palmitinsav	40 %[m/v]

Keresztreakciók

Különböző mikroorganizmusokat (baktériumok, paraziták és vírusok) vizsgáltak, amelyek gyakran előfordulhatnak a székletmintákban. Az e vizsgálatnál értékelendő mikroorganizmusokat azért választották ki, mert vagy természetes módon előfordulnak a székletmintákban, vagy gasztrointesztinális kórokozóként megfelelő tüneteket okoznak. Az elemzésekhez baktérium- (10^7 - 10^9 CFU/mL) vagy gombakultúrákat vagy az adott mikroorganizmusok vírusizolátumait (pozitív székletmintákból) használtak.

A RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex valós idejű PCR specifikus a norovírus GI és norovírus GII vírusokra. A következő fajokkal nem mutattak ki keresztreaktivitást (lásd: 17. táblázat):

17. táblázat: Potenciálisan keresztreakciót adó mikroorganizmusok.

Mikroorganizmus	Vizsgálati eredmény*	
	Norovirus GI	Norovirus GII
Adenovirus	-	-
<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. Pontosság

A RIDA®UNITY Norovirus I & II valós idejű PCR-teszt pontosságát a következő mérlegelési szintek esetében határozták meg.

Vizsgálaton *belüli* pontosság: 5 kontrollminta meghatározása egyenként 20 ismétléssel, RIDA®UNITY készülékekkel, azonos körülmények között.

Vizsgálatok *közötti* pontosság: 5 kontrollminta meghatározása 20 futtatásban két párhuzamosban, 10 munkanapon (napi 2 futtatás), különböző készülékeken, reprodukálható körülmények között.

A vizsgálaton *belüli* és vizsgálatok *közötti* pontosság vizsgálatát három különböző tétel felhasználásával végezték el.

A RIDA®UNITY Norovirus I & II valós idejű PCR-teszttel végzett adott mérések variációs együtthatója a RIDA®UNITY készüléken legfeljebb 4,82 %, a CFX96™ Dx készüléken pedig legfeljebb 3,25 %.

18. táblázat: A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt pontossági eredményei a norovírus GI esetében (RIDA®UNITY System rendszer)

Ct átlagérték /CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

19. táblázat: ARIDA®UNITY Norovirus I & II teszt pontossági eredményei a norovírus GI esetében (CFX96™ Dx)

Ct átlagérték /CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

20. táblázat: A RIDA®GENE Norovirus I & II teszt pontossági eredményei a norovírus GII esetében (RIDA®UNITY System rendszer)

Ct átlagérték /CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

21. táblázat: A RIDA®UNITY Norovirus I & II teszt pontossági eredményei a norovírus GII esetében (CFX96™ Dx)

Ct átlagérték /CV	Vizsgálaton <i>belüli</i>			Vizsgálatok <i>közötti</i>			Tételek <i>közötti</i>	
	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1. készlettel	2. készlettel	3. készlettel	1-3. készlettel	
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	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív	Negatív
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4. Analitikai reaktivitás

A RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex valós idejű RT-PCR teszt reaktivitását az I-es és II-es genocsoport különböző norovírus genotípusainak meghatározott paneljén vizsgálták (lásd: 22. táblázat).

22. táblázat: Analitikai reaktivitás vizsgálata

Törzs	Eredmény*	
	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	-	+

*+ = pozitív (3 ismétlésből legalább 2 pozitív)










- = negatív

14. Verziótörténet



Verziószám	Szakasz és megnevezés
2022-08-09	Kiadási verzió

15. A szimbólumok magyarázata

Általános szimbólumok

	<i>In vitro</i> diagnosztikai alkalmazásra
	Kövesse a használati utasítást
	Gyártási szám
	Felhasználhatósági idő
	Tárolási hőmérséklet
	Tételszám
	A tesztek száma
	A gyártás dátuma
	Gyártó

Vizsgálatspecifikus szimbólumok

	Reakcióelegy
	Enzimkeverék
	Negatív kontroll
	Pozitív kontroll

16. Hivatkozások

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).