

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



1. Paskirtis

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimas, atliekamas naudojant RIDA®UNITY platformą, yra daugybinių tikralaikės RT PGR tyrimas, skirtas tiesiogiai kokybiškai aptikti ir diferencijuoti norovirus I (GI) ir II (GII) genogrupių RNA neapdorotuose žmogaus išmatų mėginiuose, paimtuose iš asmenų, kuriems pasireiškia ūminio gastroenterito požymių bei simptomų.

RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimas skirtas padėti diferenciškai diagnozuoti norovirus genogrupę I (GI) ir II (GII) infekcijas pacientams, kuriems pasireiškia gastroenterito simptomų, remiantis kitais klinikiniais ir laboratoriniais duomenimis.

Neigiami rezultatai neatmeta norovirusinės infekcijos ir neturėtų būti naudojami kaip vienintelis diagnozės pagrindas.

Gaminys skirtas naudoti profesionalams.

2. Tyrimo santrauka ir paaiškinimas

Norovirusai yra viena iš pasaulyje labiausiai paplitusių nebakterinio gastroenterito priežasčių visų amžiaus grupių žmonėms, nuo jų kasmet miršta apie 70 000 - 200 000 žmonių.⁽¹⁾ Jie sukelia apie 20 % ūminio gastroenterito atvejų visame pasaulyje. Žmogaus norovirusai, anksčiau vadinti Norvalko virusais, pirmą kartą buvo nustatyti 1972 m. išmatų mėginiuose, paimtuose per gastroenterito protrūkį Norvalke, Ohajo valstijoje, JAV, todėl jie tapo pirmaisiais virusiniais patogenais, sukeliančiais gastroenteritą.⁽²⁾

Norovirusai priklauso *Caliciviridae* šeimai ir yra maži virusai be apvalkalo su viengrande RNA (ssRNA). Remiantis nuo viruso RNA priklausomos RNA polimerazės ir kapsidės baltymo genetinėmis sekomis, norovirusai skirstomi į 10 genogrupių (GI-GX): šiuo metu yra daugiau nei 49 skirtingi genotipai (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI ir po vieną GVII, GVIII, GIX [anksčiau vadinta GII.15] ir GX 1 genotipą) ir įvairių padermių. Dėl patogeniškumo žmonėms svarbiausios yra I, II ir kartais IV genogrupės.⁽¹⁾ Jungtinėse Amerikos Valstijose daugiau kaip 99 % visų norovirus protrūkių sukelia GI ir GII virusai.⁽³⁾ Norovirusų sukulto gastroenterito priežastis dažnai būna išmatose ir vėmaluose esantys virionai, užsikrėsti šia liga užtenka vos 10 infekcinių dalelių. Didelis aplinkos stabilumas ir maža infekcijos dozė lemia didelį norovirusų užkrečiamumą.⁽⁴⁾ Tipiniai norovirusinės infekcijos simptomai yra viduriavimas, vėmimas ir pykinimas.⁽³⁾

3. Tyrimo principas

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II daugybinės tikralaikės RT-PCR tyrimas yra molekulinė diagnostinė PGR, skirta tiesiogiai kokybiškai aptikti ir diferencijuoti norovirus genogrupę I (GI) RNA ir norovirus genogrupę II (GII) ir GIV RNA žmogaus išmatų mėginiuose. Apdorojimas yra visiškai automatizuotas naudojant RIDA[®] UNITY System. Pirmiausia nukleorūgštys išskiriamos naudojant RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit ir Internal Control Kit. Tikslinė seka aptinkama vieno etapo realaus laiko RT-PCR formatu, t. y. viename reakcijos buteliuke atliekama atvirkštinė transkripcija (RT) ir vėlesnė PGR. Proceso metu izoliuota RNA transkribuojama į kDNR pasitelkiant atvirkštinę transkriptazę. Tada GI ir GII būdingi genų fragmentai amplifikuojami naudojant tikralaikę PGR.

Amplifikuotos tikslinės sekos (ORF1 / ORF2 jungties sritis) aptinkamos naudojant hidrolizės zondus, kurių viename gale yra pažymėtas slopiklis, o kitame gale - fluorescencinis reporterinis dažas (fluoroforas). Mėginiai hibridizuojasi su ampikonu esant tikslinei sekai. Plėtimo metu Taq polymerase atskiria reporterinį dažą nuo slopiklio. Reporterinis dažas skleidžia fluorescencinį signalą, kurį aptinka tikralaikės PGR prietaiso optinis įtaisas. Fluorescencinis signalas didėja didėjant susidariusių ampikonų kiekiui. RIDA[®] UNITY Internal Control Kit reikia naudoti tuo pačiu metu, kad būtų galima patikrinti mėginio paruošimą ir (arba) galimą PGR slopinimą.

4. Pateikiami reagentai

Rinkinyje esančių reagentų pakanka 96 nustatymams atlikti.*

1 lent. Pateikiami reagentai

REF	Reagentas	Kiekis		Dangtelio spalva
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	geltona, paruošta naudoti
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	raudona, paruošta naudoti
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	mėlyna, paruošta naudoti
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	balta, paruošta naudoti

* Pakartotinai naudojant ir mažesnėmis serijomis, reakcijų skaičius gali būti sumažintas.

5. Laikymo nurodymai

- Vadovaukitės 2 lentelėje pateiktomis tvarkymo gairėmis ir iš karto po naudojimo laikykite rinkinį pagal nurodytą informaciją.
- Visus reagentus reikia laikyti nuo -16 °C iki -28 °C temperatūroje, saugant nuo šviesos, ir neatidarius galima naudoti iki etiketėje išspausdintos galiojimo pabaigos datos. Pasibaigus galiojimo laikui, kokybės garantija nebegalioja.
- Visus reagentus prieš naudojant reikia atsargiai atšildyti (pvz., šaldytuve, 2-8 °C).
- Pakartotinis užšaldymas ir atšildymas iki 8 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

2 lent. Laikymo sąlygos ir informacija

	Laikymo temperatūra	Maksimali laikymo trukmė
neatidarius	Nuo -16 iki -28 °C	Galima naudoti iki išspausdintos galiojimo pabaigos datos
atidarius	Nuo -16 iki -28 °C	8 užšaldymo ir atšildymo ciklų

6. Reikalingi, bet nepateikiami reagentai

RIDA[®] UNITY Norovirus I & II daugybinis tikralaikis RT-PCR tyrimas skirtas naudoti tik su RIDA[®] UNITY System. Norint tinkamai naudoti, būtina reikalingi šie gaminiai:

6.1 Reagentai

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II tyrimui atlikti reikalingi toliau nurodyti reagentai:

Reagentai	Gaminio numeris
RIDA [®] UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA [®] UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2 Laboratorinė įranga

RIDA[®] UNITY Norovirus I & II tyrimui atlikti reikalinga toliau nurodyta įranga:

Įranga
RIDA [®] UNITY System; gaminio numeris: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA [®] UNITY sunaudojamos medžiagos (antgaliai, plokštelės, reakcijos buteliukai, plėvelės). Žr. RIDA [®] UNITY System naudojimo instrukcijas, sunaudojamų medžiagų užsakymo informaciją.
Sūkurinė maišyklė
Ant stalo pastatoma centrifuga
Vienkartinės pirštinės be pudros

Išorinis cikleris (galimas sistemos patobulinimas)
CFX96 [™] Dx (Bio-Rad)

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II rinkinį galima naudoti kartu su kitais suderinamais cikleriais. Alternatyvius tikralaikės PGR instrumentus turi patikrinti / patvirtinti naudotojas. Norėdami gauti informacijos apie suderinamumą, susisiekite su R-Biopharm AG el. pašto adresu pcr@r-biopharm.de.

7. Įspėjimai ir atsargumo priemonės naudotojams

Skirta naudoti *in vitro* diagnostikai.

Šį tyrimą turi atlikti tik kvalifikuoti laboratorijos darbuotojai. Būtina laikytis darbo medicinos laboratorijose gairių.

Atlikdami šį tyrimą visada griežtai laikykitės naudojimo instrukcijų.

Mėginių ar reagentų į pipetę netraukite burna. Venkite sąlyčio su pažeista oda ir gleivinėmis.

Tvarkydami reagentus ir mėginius naudokite asmens apsaugos priemones (mūvėkite tinkamas pirštines, vilkėkite laboratorinį chalata, dėvėkite apsauginius akinius). Baigę tyrimą nusiplaukite rankas.

Nerūkykite, nevalgykite ir negerkite vietose, kuriose tvarkomi mėginiai.

Stenkitės neužteršti mėginių ir rinkinio komponentų mikrobais ir nukleazėmis (DNaze / RNaze).

Klinikinius mėginius reikia laikyti potencialiai užkrečiamais ir tinkamai pašalinti, kaip ir visus reagentus bei medžiagas, turinčius sąlytį su potencialiai užkrečiamais mėginiais.

Nesukeiskite ir nesumaišykite vienos partijos sudėtinių dalių (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) su kitos partijos sudėtinėmis dalimis.

Tyrimo rinkinį galima naudoti 8 savaites po pirmojo atidarymo (rinkinį galima iš naujo įdėti iki 6 kartų). Nenaudokite tyrimo rinkinio pasibaigus jo galiojimo laikui. Šias specifikacijas taip pat tikrina RIDA[®]UNITY System.

Naudotojai yra atsakingi už tinkamą visų panaudotų reagentų ir medžiagų šalinimą. Laikykitės nacionalinių taisyklių dėl šalinimo.

Daugiau informacijos apie saugos duomenų lapą (Safety Data Sheet, SDS) ieškokite pagal gaminio numerį adresu <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Naudotojams Europos Sąjungoje: praneškite R-Biopharm AG ir atitinkamoms nacionalinėms institucijoms apie visus sunkius nepageidaujamus reiškinius, susijusius su gaminiu.

8. Mėginių rinkimas ir laikymas

Rekomenduojama naudoti šviežią mėginio medžiagą, kad būtų pasiektas geriausias RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimo efektyvumas.

Stenkitės pakartotinai neužšaldyti ir neatšildyti mėginio.

Išmatų mėginių neimkite į transportavimo indus, kuriuose yra transportavimo terpių su konservantais, gyvūnų serumų, metalo jonų, oksidatorių ar ploviklių, nes tokios medžiagos gali trukdyti atlikti RIDA® UNITY tyrimus.

Rekomenduojama paruošti alikvotines mėginių dalis, kad būtų išvengta pakartotinio atšildymo ir užšaldymo. Užšaldytus mėginius reikia atšildyti prieš pat išskyrimą, kad nukleorūgštys nesuirėtų.

Vadovaukitės 3-6 lentelėse pateiktais mėginių laikymo nurodymais.

3 lent. Mėginių laikymas - norovirus GI aptikimas

Natyviniai mėginiai - išmatos		
20-25 °C	2-8 °C	-20/-80 °C
≤7 d.	≤9 d.	≤6 mėn.

Eliuate (iš išmatų)		
30 °C	2-8 °C	-20 °C
≤24 val.	≤36 val.	≤1 mėn.

Laikant -20/-80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

4 lent. Mėginių laikymas - norovirus GII aptikimas

Natyviniai mėginiai - išmatos		
20-25 °C	2-8 °C	-20/-80 °C
≤7 d.	≤9 d.	≤6 mėn.

Eliuate (iš išmatų)		
30 °C	2-8 °C	-20 °C
≤24 val.	≤36 val.	≤1 mėn.

Laikant -20/-80 °C temperatūroje, pakartotinis išmatų mėginių užšaldymas / atšildymas iki 5 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

Laikant -20 °C temperatūroje, pakartotinis eliuato (iš išmatų) užšaldymas / atšildymas iki 3 kartų neturi įtakos tyrimo savybėms.

8.1 DNR paruošimas iš išmatų mėginių

Norėdami išskirti DNR iš išmatų mėginių, naudokite RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Vadovaukitės tinkamomis procedūromis, pateiktomis RIDA®UNITY Universal Extraction Kit naudojimo instrukcijose (skyrius: Nukleino rūgšties paruošimas iš išmatų mėginių).

9. Tyrimo procedūra

Naudojimo pradžioje ir mėginiai, ir RIDA®UNITY Norovirus I & II reagentai įdėti į RIDA®UNITY System.

Prieš tai tinkamai sumaišykite **Reaction Mix**, **Negative Control** ir **Positive Control** naudodami sūkurinę maišyklę. Sūkurine maišykle išmaišykite **Enzyme Mix**. Tada trumpai centrifuguokite visus komponentus.

Tiriamų mėginių PGR mėgintuvėliai turi būti iš anksto įdėti į integruotą PGR ciklerį. Galima naudoti laikiklius, kad būtų galima tinkamai įkelti į sistemą reagentus ir sunaudojamas medžiagas. Įkeldami vadovaukitės RIDA®UNITY System instrukcijomis. Laikykitės atitinkamų RIDA®UNITY System vadovo skyrių (skyrius: Serijos vykdymas).

RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimą galima naudoti tik su RIDA®UNITY Internal Control Kit. Tai leidžia anksti atpažinti galimą PGR slopinimą, patikrinti reagento vientisumą ir patvirtinti sėkmingą nukleorūgšties ekstrahavimą. Procedūra aprašyta RIDA®UNITY Internal Control Kit naudojimo instrukcijose (skyrius: Tyrimo procedūra).

Automatinis apdorojimas aprašytas RIDA®UNITY System vadove (skyrius: Serijos vykdymas).

9.1 Prietaiso nuostatos

9.1.1 Universalusis tikralaikės PGR profilis

Siekiant suderinti RIDA®UNITY tyrimus, RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimas buvo patikrintas naudojant vien tik universalųjį profilį. Tai leidžia sujungti DNR ir RNR tyrimus. Bendrai vertinant, atvirkštinė transkripcija universaliajame profilyje yra pirmą kartą.

7 lent. Universalusis tikralaikės PGR profilis, skirtas RIDA®UNITY

<u>Atvirkštinė transkripcija</u>	10 min., 58 °C
Pradinis denatūravimas	1 min., 95 °C
Ciklai	45 ciklai
<u>PGR</u> denatūravimas	10 sek., 95 °C
Atkaitinimas / plėtimas	15 sek., 60 °C
Temperatūros perėjimo greitis / kitimo greitis	Maksimalus

Pastaba. Atkaitinimas ir išplėtimas atliekami tame pačiame etape.

8 lent. Universalusis tikralaikės PGR profilis, skirtas CFX96™ Dx

<u>Atvirkštinė transkripcija</u>	10 min., 58 °C
Pradinis denatūravimas	1 min., 95 °C
Ciklai	45 ciklai
<u>PGR</u> denatūravimas	15 sek., 95 °C
Atkaitinimas / plėtimas	30 sek., 60 °C
Temperatūros perėjimo greitis / kitimo greitis	Maksimalus

Pastaba. Atkaitinimas ir išplėtimas atliekami tame pačiame etape.

9.2 Aptikimo kanalo nustatymas

9 lent. Tinkamų aptikimo kanalų parinkimas

Tikralaikės PGR prietaisas	Aptikimas	Aptikimo kanalas	Pastaba
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK kanalas GGII
	Internal Control	HEX	SEEK kanalas ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanalas GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK kanalas GGII
	Internal Control	VIC	SEEK kanalas ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanalas GGI

10. Kokybės kontrolė - reagentų nestabilumo arba galiojimo pabaigos nustatymas

Mėginiai vertinami naudojant RIDA®UNITY System analitinę programinę įrangą RIDA® SEEK. **Negative Control** ir **Positive Control** turi rodyti teisingus rezultatus (žr. 9 lentelę).

Positive Control pateikiama 10^3 kopijų/ μ L koncentracijos. Jos naudojama iš viso 5×10^3 kopijų kiekvienam PGR tyrimui.

Negative Control sudėtyje jau yra RIDA®UNITY Internal Control. Kadangi kontrolinės medžiagos neturi šablono, tiksliniuose kanaluose signalų nenumatoma. Teigiami signalai IC kanale, su kuriuo aptinkama vidinė kontrolė, yra būtini (žr. 10 lentelę).

10 lent. Galiojantis PGR tyrimas turi atitikti toliau nurodytas sąlygas.

Mėginys	Rezultatas	IC Ct	Tikslinio geno Ct
Teigiama kontrolinė medžiaga	+	Netaikoma*	Žr. analizės sertifikate (Certificate of Analysis, Coa)
Neigiama kontrolinė medžiaga	-	Ct > 20	0

* Tam tikromis aplinkybėmis IC kanalas gali turėti teigiamą signalą teigiamoje kontrolinėje medžiagoje, todėl neturėtų būti vertinamas.

Jei teigiama kontrolinė medžiaga nepatenka į nurodytą Ct diapazoną, bet neigiama kontrolinė medžiaga yra tinkama, visas reakcijas, įskaitant kontrolines medžiagas, reikia analizuoti iš naujo taikant PGR.

Jei neigiama kontrolinė medžiaga nėra neigiama, bet teigiama kontrolinė medžiaga yra tinkama, visas reakcijas, įskaitant kontrolines medžiagas, reikia analizuoti iš naujo taikant PGR.

Jei gaunamos kitokios vertės, nei nurodyta, prieš kartodami tyrimą patikrinkite:

- Naudojamų reagentų galiojimo pabaigos datą;
- Naudojamos įrangos veikimą;
- Tyrimo procedūros tinkamumą.

Jei pakartojus tyrimą sąlygos vis tiek neįvykdomos, kreipkitės į gamintoją arba vietinį R-Biopharm platintoją.

11. Vertinimas ir interpretavimas

Mėginių vertinimas ir interpretavimas atliekamas naudojant RIDA®UNITY System analitinę programinę įrangą RIDA®SEEK.

Šiuo metu nėra tarptautiniu mastu pripažinto pamatinio metodo ar pamatinės medžiagos dėl standartizacijos. Kontrolinės medžiagos metrologiškai atsekamos pagal vidinius R-Biopharm AG standartus, pagrįstus specifiniais sintetiniais RNA amplikonais.

Dėl išsamesnės informacijos apie metrologinį atsekamumą kreipkitės į R-Biopharm AG.

Pakoreguotas vertes, diapazonus ir papildomos informacijos galima rasti analizės sertifikate (Certificate of Analysis, CoA).

11 lent. Rezultatų interpretavimas*

Aptikimas			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Rezultatas
+	-	+ / -	GII ¹ norovirus aptinkamas
-	+	+ / -	GI norovirus aptinkamas
+	+	+ / -	GII ¹ norovirus ir GI norovirus aptinkami
-	-	+	Tiksliniai genai neaptinkami
-	-	-	Negaliojantis

*+= teigiamas

- = neigiamas

¹ Žr. metodo apribojimus (10 skyrius).

Mėginys laikomas teigiamu, jei mėginio RNR ir **Internal Control** rodo amplifikacijos signalą aptikimo sistemoje.

Mėginys taip pat laikomas teigiamu, jei mėginio RNR rodo amplifikacijos signalą, bet **Internal Control** amplifikacijos signalo negalima matyti aptikimo sistemoje. Šiuo atveju nebūtina aptikti **Internal Control**, nes didelė amplikono koncentracija gali sukelti silpną **Internal Control** signalą arba jo nebuvimą.

Mėginys yra neigiamas, jei mėginio RNR nerodo amplifikacijos signalo, bet **Internal Control** amplifikacijos signalas yra matomas aptikimo sistemoje. PGR reakcijos slopinimą ir pirminį išskyrimą galima atmesti aptikus **Internal Control**.

Mėginys yra netinkamas, jei mėginio RNR ir **Internal Control** nerodo amplifikacijos signalo aptikimo sistemoje. Mėginyje yra inhibitorių arba išskyrimo proceso metu įvyko klaida.

12. Metodo apribojimai

1. RIDA[®]UNITY Norovirus I & II tyrimas aptinka norovirus GI ir norovirus GII RNA neapdorotuose žmogaus išmatų mėginiuose. Ryšio tarp nustatytos Ct vertės lygio ir sunkių klinikinių simptomų atsiradimo iš to išvesti negalima. Gautus rezultatus visada reikia interpretuoti kartu su visais klinikiniais simptomais.
2. Diagnozė neturėtų būti grindžiama vien molekulinės biologinės analizės rezultatais, visada turėtų būti atsižvelgiama į paciento ligos istoriją ir simptomus.
3. Šis tyrimas patvirtintas tik automatiškai apdoroti naudojant RIDA[®]UNITY System.
4. Šis tyrimas patikrintas ir patvirtintas tik išmatų mėginiams.
5. Netinkamai paimant, transportuojant, laikant ir tvarkant mėginius arba esant mažesniai nei tyrimo analitinis jautrumas patogenų kiekiui, galima gauti klaidingai neigiamus rezultatus.
6. PGR inhibitorių buvimas gali lemti klaidingai neigiamus arba netinkamus rezultatus.
7. Kaip ir atliekant visus PGR pagrįstus *in vitro* diagnostinius tyrimus, galima aptikti itin mažas tikslinių sekų, kurios yra žemiau aptikimo ribos (95 % LoD), koncentracijas. Gauti rezultatai ne visada atkartojami.
8. Mutacijos arba polimorfizmai siurblio arba zondo prijungimo vietose gali trukdyti aptikti naujus arba nežinomus variantus ir lemti klaidingai neigiamus rezultatus naudojant RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
9. Teigiamas tyrimo rezultatas nebūtinai rodo gyvybingų organizmų buvimą. Teigiamas rezultatas rodo, kad yra tikslinių genų (norovirus GI ir GII; ORF1 / ORF2 jungties sritis).
10. IV genogrupės norovirusai, kurie labai retais atvejais taip pat gali užkrėsti žmones, taip pat aptinkami naudojant RIDA[®]UNITY Norovirus I & II.
11. Šis tyrimas turi būti atliekamas laikantis geros laboratorinės praktikos (GLP) taisyklių. Atliekdami tyrimą naudotojai turi tiksliai laikytis gamintojo nurodymų.

13. Veiksmingumo charakteristikos

13.1 Klinikinio veiksmingumo charakteristikos

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II daugybinės tikralaikės PGR tyrimas buvo palygintas išorinėje laboratorijoje su CE ženklu pažymėtu etaloniniu tyrimu, naudojant 237 išmatų mėginius, paimtus iš pacientų, kuriems pasireiškė virškinimo trakto infekcijos simptomų.

Rezultatai rodo didelį jautrumą ir specifiškumą aptinkant norovirus GI arba GII žmogaus išmatų mėginiuose.

12 lent. Norovirus GI aptikimas

		Etaloninė PGR		Iš viso
		Teigiamas	Neigiamas	
RIDA [®] UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Teigiamas	33	0	33
	Neigiamas	3	201	204
	Iš viso	36	201	237

Santykinis jautrumas (95 % PI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Santykinis specifiškumas (95 % PI)	100 % (98,2 % - 100 %)

13 lent. Norovirus GII aptikimas

		Etaloninė PGR		Iš viso
		Teigiamas	Neigiamas	
RIDA [®] UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Teigiamas	126	0	126
	Neigiamas	4	107	111
	Iš viso	130	107	237

Santykinis jautrumas (95 % PI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Santykinis specifiškumas (95 % PI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2 Analitinio veiksmingumo charakteristikos

13.2.1 Aptikimo riba (LoD 95%)

Teigiamas mėginys (neigiami sudėtiniai išmatų mėginiai, papildyti teigiamais klinikiniais išmatų mėginiais) buvo matuojamas penkiais skiedimo žingsniais (0,25 log žingsniais) kiekvieno taikinio atveju su 20 kartotinių mėginių iš vienos partijos kiekviename etape LoD nustatyti. Tuomet buvo atlikta probito analizė. Tada apskaičiuota LoD buvo patvirtinta naudojant 20 kartotinių mėginių kiekvieno taikinio atveju pagal apskaičiuotą skiedimo žingsnį / koncentraciją.

Siekiant aptikti norovirus GI ir norovirus GII RNA naudojant RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimą UNITY System, buvo nustatytos toliau nurodytos aptikimo ribos (LoD). Šių matavimų rezultatai pateikti 15 lentelėje.

15 lent. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimų parametų norovirus GI ir norovirus GII aptikimo ribos rezultatai išmatų mėginiuose.

	Norovirus GI	Norovirus GII
LoD	4.85E-04 [skiedimo koeficientas]**	5.98E-05 [skiedimo koeficientas]*

(*) Santykinis pradinės koncentracijos praskiedimas. Teigiamas klinikinis mėginys, kurio Ct intervalas yra 26-27

(**) Santykinis pradinės koncentracijos praskiedimas. Teigiamas klinikinis mėginys, kurio Ct diapazonas yra 30-31

Parametro norovirus GI LoD išmatų mėginiuose buvo nustatyta esant 4.85E-04 [skiedimo koeficientas].

Parametro norovirus GII LoD išmatų mėginiuose buvo nustatyta esant 5.98E-05 [skiedimo koeficientas].

Taikant išplėstinę darbo eigą naudojant CFX96™ Dx, šios LoD vertės buvo patvirtintos darant prielaidą, kad išliekama dvigubame trigubame LoD intervale.

13.2.2 Analitinis specifiškumas

Trukdančios medžiagos

PGR inhibitorių ir trukdančių medžiagų buvimas gali lemti klaidingai neigiamus arba negaliojančius rezultatus. Todėl buvo tiriamas įvairių medžiagų, kurios gali egzistuoti dėl jų plataus naudojimo virškinimo trakto infekcijoms gydyti arba paplitimo atitinkamuose mėginiuose, poveikis.

Medžiagos, galinčios daryti reikšmingą įtaką tyrimo rezultatams, iš pradžių buvo tiriamos trukdžių ekrane esant didelei koncentracijai (tris kartus didesnei už paros dozę arba imituojant blogiausią atvejį).

Nebuvo nustatyta jokių trukdžių 16 lentelėje išvardytoms medžiagoms.

16 lent. Potencialiai trukdančios medžiagos

Potencialiai trukdanti medžiaga	Koncentracija
Ciprofloksacin-ratiopharm® 500 mg plėvele dengtos tabletės (ciprofloksacinas)	0,375 % (m/V)
Etanolis	5 % eliuato
Guanidinio hidrochloridas	5 % eliuato
Žmogaus kraujas	5 % (V/V)
Mucinai	5 % (m/V)
Stearino / palmitino rūgštis	40 % (m/V)

Kryžminės reakcijos

Buvo tiriami įvairūs organizmai (bakterijos, parazitai ir virusai), kurie gali būti įprastai randami išmatų matricoje. Mikroorganizmai, kuriuos reikia ištirti dėl šio tyrimo, buvo pasirinkti dėl to, kad jie natūraliai aptinkami išmatų mėginiuose arba sukelia atitinkamus simptomus kaip virškinimo trakto patogenai. Analizei buvo naudojamos bakterijų (nuo 10^7 iki 10^9 CFU/mL) ir grybų kultūros arba atitinkamų mikroorganizmų virusų izoliatai (iš teigiamų išmatų mėginių).

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time PCR yra specifinis norovirus GI ir norovirus GII tyrimas. Kryžminio reaktyvumo su toliau nurodytomis rūšimis nenustatyta (žr. 17 lentelę).

17 lent. Potencialiai kryžmiškai reaguojantys mikroorganizmai.

Mikroorganizmas	Tyrimo rezultatas*	
	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 Glaudumas

RIDA®UNITY Norovirus I & II real-time PCR tyrimo glaudumas buvo nustatytas toliau nurodytiems rūpimiems lygiams.

Tyrimo glaudumas: 5 kontrolinių mėginių nustatymas naudojant po 20 jų kartotinių mėginių su RIDA® UNITY identiškėmis sąlygomis.

Glaudumas tarp tyrimų: 5 kontrolinių mėginių nustatymas skirtingiems instrumentams atkuriamomis sąlygomis tiriant pakartotinius mėginius 20 kartų per 10 darbo dienų (2 tyrimai per dieną).

Tyrimo glaudumas ir glaudumas tarp tyrimų buvo tiriamas naudojant tris skirtingas partijas.

Gauti atitinkamų matavimų, atliktų naudojant RIDA®UNITY Norovirus I & II tikralaikį PGR tyrimą, variacijos koeficientai buvo ne daugiau kaip 4,82 % naudojant RIDA®UNITY ir ne daugiau kaip 3,25 % naudojant CFX96™ Dx.

18 lent. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimo dėl norovirus GI glaudumo rezultatai (RIDA®UNITY System)

Vidutinė Ct vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

19 lent. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimo dėl norovirus GI glaudumo rezultatai (CFX96™ Dx)

Vidutinė Ct vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

20 lent. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimo dėl norovirus GII glaudumo rezultatai (RIDA®UNITY System)

Vidutinė Ct vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

21 lent. RIDA®UNITY Norovirus I & II tyrimo dėl norovirus GII glaudumo rezultatai (CFX96™ Dx)

Vidutinė Ct vertė / CV	Tyrimo			Tarp tyrimų			Tarp partijų	
	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1 partija	Rinkinio 2 partija	Rinkinio 3 partija	Rinkinio 1-3 partijos	
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	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas	Neigiamas
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4 Analitinis reaktyvumas

RIDA®UNITY Norovirus I & II multiplex real-time RT-PCR tyrimo reaktyvumas buvo ištirtas apibrėžtoje I, II ir IV genogrupių įvairių norovirus genotipų I ir II grupėje (žr. 22 lentelę).

22 lent. Analitinio reaktyvumo tyrimas

Padermė	Rezultatas*	
	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	-	+

* + = teigiamas (bent 2 iš 3 kartotinių mėginių teigiami)










- = neigiamas

14. Versijų istorija





Versijos numeris	Skyrius ir pavadinimas
2022-08-09	Leidimo versija

15. Simbolių paaiškinimas

Bendrieji simboliai

	Skirta naudoti <i>in vitro</i> diagnostikai
	Vadovaukitės naudojimo instrukcijomis
	Partijos numeris
	Naudoti iki
	Laikymo temperatūra
	Gaminio numeris
	Tyrimų skaičius
	Pagaminimo data
	Gamintojas

Su tyrimu susiję simboliai

	Reakcijos mišinys
	Fermentų mišinys
	Neigiama kontrolinė medžiaga
	Teigiama kontrolinė medžiaga

16. Nuorodos

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).