

RIDA® UNITY Norovirus I & II

REF UN1415



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

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



1. Paredzētais lietojums

Lietošanai *in vitro* diagnostikā. RIDA®UNITY Norovirus I & II tests, kas veikts ar platformu RIDA®UNITY, ir multipleksais reāllaika PĶR tiešai kvalitatīvai norovīrusu genogrupas I (GI) un genogrupas II (GII) RNS noteikšanai un atšķiršanai neapstrādātos cilvēka fēču paraugos no cilvēkiem ar akūta gastroenterīta pazīmēm un simptomiem.

RIDA®UNITY Norovirus I & II tests ir paredzēts, lai kopā ar citām klīniskām un laboratoriskām atradēm atbalstītu norovīrusa genogrupas I (GI) un II (GII) infekcijas diferenciāldiagnozi pacientiem ar gastroenterīta simptomiem.

Negatīvi rezultāti neizslēdz inficēšanos ar norovīrusu, un tos nedrīkst izmantot kā vienīgo diagnozes pamatu.

Izstrādājums paredzēts profesionālai lietošanai.

2. Kopsavilkums un skaidrojums par testu

Norovīrusi ir viens no pasaulē izplatītākajiem nebakteriālā gastroenterīta cēloņiem cilvēkiem visās vecuma grupās un katru gadu izraisa aptuveni 70 000-200 000 nāves gadījumu.⁽¹⁾ Tie izraisa aptuveni 20 % no visiem akūta gastroenterīta gadījumiem visā pasaulē. Cilvēka norovīrusi, ko agrāk dēvēja par Norwalk vīrusiem, pirmo reizi tika konstatēti 1972. gadā fēču paraugos, kas tika savākti gastroenterīta uzliesmojuma laikā Norwalkā (Norwalk), Ohio štātā, ASV, padarot tos par pirmajiem vīrusu patogēniem, par kuriem pierādīts, ka tie izraisa gastroenterītu.⁽²⁾ Norovīrusi pieder pie *Caliciviridae* dzimtas, un tie ir mazi vīrusi bez apvalka ar viena pavediena RNS (ssRNS). Pamatojoties uz vīrusa RNS atkarīgās RNS polimerāzes un kapsīda proteīna ģenētiskajām sekvencēm, norovīrusi tiek dalīti 10 genogrupās (no GI līdz GX) ar pašlaik vairāk nekā 49 dažādiem genotipiem (9 × GI, 27 × GII, 3 × GIII, 2 × GIV, 2 × GV, 2 × GVI un 1 genotipu GVII, GVIII, GIX [iepriekš GII.15] un GX) un dažādiem celmiem. Cilvēka patogenitātes ziņā nozīmīgākās ir I, II un dažkārt IV genogrupa.⁽¹⁾ Amerikas Savienotajās Valstīs vairāk nekā 99 % no visiem norovīrusu uzliesmojumiem izraisa GI un GII vīrusi.⁽³⁾ Norovīrusu izcelsmes gastroenterītu bieži izraisa virionu klātbūtne izkārnījumos un vēmekļos, jo slimības izraisīšanai pietiek tikai ar 10 infekciozām daļiņām. Augstā stabilitāte vidē un mazā inficējošā deva veicina augstu norovīrusu pārnēsamību.⁽⁴⁾ Raksturīgi norovīrusu infekcijas simptomi ir caureja, vemšana un slikta dūša.⁽³⁾

3. Testa princips

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multipleksais reāllaika RT-PĶR ir molekulārās diagnostikas PĶR tiešai kvalitatīvai norovīrusa genogrupas I (GI) RNS un genogrupas II (GII) un GIV RNS noteikšanai un atšķiršanai cilvēka fēču paraugos. Apstrāde RIDA[®]UNITY sistēmā ir pilnībā automatizēta. Vispirms nukleīnskābes tiek ekstrahētas, izmantojot RIDA[®]UNITY Universal Extraction Kit un Internal Control Kit. Mērķa sekvenca tiek noteikta viensoļa reāllaika RT-PĶR formātā, proti, vienā reakcijas flakonā tiek veikta reversā transkripcija (RT) un sekojošā PĶR. Šajā procesā izolētā RNS tiek transkribēta cDNS ar reversās transkriptāzes palīdzību. Norovīrusa GI un GII/GIV specifiskie gēnu fragmenti pēc tam tiek pastiprināti, izmantojot reāllaika PĶR.

Pastiprinātās mērķa sekvences (ORF1/ORF2 savienojuma apgabals) tiek noteiktas, izmantojot hidrolīzes zondes, kas vienā galā ir atzīmētas ar nomācēju, bet otrā galā - ar fluorescējošu ziņojošu krāsvielu (fluoroforu). Mērķa sekvences klātbūtnē zondes hibridizējas ar amplikonu. Pagarināšanas laikā Taq polymerase atdala ziņotāju no nomācēja. Ziņojošā krāsviela izstaro fluorescējošu signālu, ko uztver reāllaika PĶR instrumenta optiskā iekārta. Fluorescējošais signāls pastiprinās līdz ar izveidoto amplikonu daudzumu. RIDA[®]UNITY Internal Control Kit jāizmanto vienlaicīgi, lai varētu pārbaudīt paraugu sagatavošanu un/vai iespējamo PĶR inhibīciju.

4. Nodrošinātie reaģenti

Ar komplektā esošajiem reaģentiem pietiek 96 noteikšanas reizēm.*

1. tabula. Nodrošinātie reaģenti

ATSAUCE	Reaģents	Apjoms		Vāka krāsa
UNZ1415RM	Reaction Mix	1 ×	1935 µL	dzeltens, gatavs lietošanai
UNZ1415EM	Enzyme Mix	1 ×	350 µL	sarkans, gatavs lietošanai
UNZ1415PC	Positive Control	1 ×	200 µL	zils, gatavs lietošanai
UNZ1415NC	Negative Control	1 ×	450 µL	balts, gatavs lietošanai

* Atkārtotas lietošanas gadījumā un mazākās sērijās reakciju skaits var būt mazāks.

5. Norādījumi par glabāšanu

- Lūdzu, ievērojiet 2. tabulā sniegtos norādījumus. Novietojiet komplektu glabāšanai uzreiz pēc lietošanas saskaņā ar sniegtajiem norādījumiem.
- Visi reaģenti jāuzglabā no -16 līdz -28 °C temperatūrā, sargājot no gaismas, un, ja tie nav atvērti, tos var lietot līdz derīguma termiņa beigām, kas norādīts uz etiķetes. Pēc derīguma termiņa beigām kvalitātes garantija vairs nav spēkā.
- Pirms lietošanas visi reaģenti piesardzīgi jāatkausē (piemēram, ledusskapī 2 °C - 8 °C temperatūrā).
- Testa veiktspēja netiek ietekmēta līdz 8 atkārtotas sasaldēšanas un atkausēšanas reizēm.

2. tabula. Glabāšanas nosacījumi un informācija

	Glabāšanas temperatūra	Maksimālais glabāšanas laiks
neatvērts	no -16 līdz -28 °C	Drīkst izmantot līdz norādītajam derīguma termiņa beigu datumam
atvērts	no -16 līdz -28 °C	8 sasaldēšanas un atkausēšanas cikli

6. Nepieciešamie, bet komplektā neiekļautie reaģenti

RIDA®UNITY Norovirus I & II multipleksas reāllaika RT-PĶR tests ir paredzēts lietošanai tikai RIDA®UNITY sistēmā. Pareizai lietošanai absolūti nepieciešami tālāk norādītie izstrādājumi.

6.1. Reaģenti

Lai veiktu RIDA®UNITY Norovirus I & II testu, ir nepieciešami tālāk norādītie reaģenti.

Reaģenti	Preces numurs
RIDA®UNITY Universal Extraction Kit (R-Biopharm AG)	UN0001
RIDA®UNITY Internal Control Kit (R-Biopharm AG)	UN0010

6.2. Laboratorijas aprīkojums

Lai veiktu RIDA®UNITY Norovirus I & II testu, ir nepieciešams tālāk norādītais aprīkojums.

Aprīkojums
RIDA®UNITY sistēma, preces numurs: ZUNITY (R-Biopharm AG)
RIDA®UNITY palīgmateriāli (uzgaļi, plates, reakcijas flakoni, plēves). Informāciju par palīgmateriālu pasūtīšanu skatiet RIDA®UNITY sistēmas lietošanas instrukcijā.
Virpuļmaisītājs
Galda centrifūga
Vienreiz lietojamie cimdi bez pulvera
Ārējais amplifikators (iespējams sistēmas uzlabojums)
CFX96™ Dx (Bio-Rad)

RIDA®UNITY Norovirus I & II komplektu var izmantot kopā ar citiem saderīgiem amplifikatoriem. Citiem reāllaika PĶR instrumentiem nepieciešama lietotāja verifikācija/validācija. Lai pārbaudītu saderību, lūdzu, sazinieties ar R-Biopharm AG pa e-pastu pcr@r-biopharm.de.

7. Brīdinājumi un piesardzības pasākumi lietotājiem

Lietošanai *in vitro* diagnostikā.

Šo testu drīkst veikt tikai kvalificēti laboratorijas darbinieki. Ievērojiet vadlīnijas darbam medicīnas laboratorijās.

Veicot šo testu, vienmēr ievērojiet lietošanas norādījumus.

Paraugus vai reaģentus nedrīkst iepilināt no pipetes, pūšot ar muti. Izvairieties no saskares ar bojātu ādu un gļotādu.

Rīkojoties ar reaģentiem un paraugiem, izmantojiet individuālos aizsarglīdzekļus (atbilstošus cimds, laboratorijas halātu, aizsargbrilles) un pēc testa nomazgājiet rokas.

Nesmēķējiet, neēdiet un nedzeriet vietās, kur tiek apstrādāti paraugi.

Nepieļaujiet paraugu un komplekta komponentu piesārņošanu ar mikrobiem un nukleāzēm (DNase/RNase).

Klīniskie paraugi jāuzskata par potenciāli infekcioziem un atbilstoši jāutilizē, tāpat kā visi reaģenti un materiāli, kas nonāk saskarē ar potenciāli infekcioziem paraugiem.

Nemainiet un nejauciet viena komplekta komponentus (Reaction Mix, Enzyme Mix, Positive Control, Negative Control) no vienas komplekta partijas ar citas partijas komponentiem.

Testa komplektu var izmantot 8 nedēļas pēc pirmās atvēršanas (komplektu var atkārtoti ielādēt līdz 6 reizēm). Nelietojiet komplektu pēc derīguma termiņa beigu datuma. Šīs specifikācijas pārbauda arī RIDA[®]UNITY sistēma.

Lietotājiem ir pienākums nodrošināt visu reaģentu un materiālu pareizu utilizāciju pēc to lietošanas. Utilizācija jāveic saskaņā ar attiecīgajā valstī spēkā esošajiem noteikumiem.

Detalizēta informācija par drošības datu lapu (Safety Data Sheet, SDS) ir atrodama ar preces numuru vietnē <https://clinical.r-biopharm.com/search/>.

Lietotājiem Eiropas Savienībā: ziņot R-Biopharm AG un attiecīgajām valsts iestādēm par visām nopietnajām nevēlamajām blakusparādībām, kas saistītas ar šo izstrādājumu.

8. Paraugu ņemšana un glabāšana

Ieteicams izmantot svaigu paraugu materiālu, lai nodrošinātu labāko RIDA[®]UNITY Norovirus I & II analīzes veikspēju.

Izvairieties no atkārtotas parauga sasaldēšanas un atkausēšanas.

Fēču paraugus nedrīkst ievietot transportēšanas konteineros, kas satur transportēšanas barotnes ar konservantiem, dzīvnieku serumus, metāla jonus, oksidētājus vai mazgāšanas līdzekļus, jo šādas vielas var traucēt RIDA[®]UNITY testu darbību.

Lai izvairītos no atkārtotas atkausēšanas un sasaldēšanas, ieteicams sagatavot paraugu alikvotās daļas. Sasaldētie paraugi ir jāatkausē tieši pirms ekstrakcijas, lai nepieļautu nukleīnskābju noārdīšanos.

Ievērojiet 3.-6. tabulā sniegtos paraugu glabāšanas norādījumus.

3. tabula. Paraugu glabāšana - norovīrusa GI noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dienas	≤ 9 dienas	≤ 6 mēneši

Eluātā (no fēcēm)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 1 mēneši

Uzglabājot -20 / -80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

4. tabula. Paraugu glabāšana - norovīrusa GI noteikšana

Sākotnējie paraugi - fēces		
20 - 25 °C	2 - 8 °C	-20 / -80 °C
≤ 7 dienas	≤ 9 dienas	≤ 6 mēneši

Eluātā (no fēcēm)		
30 °C	2 - 8 °C	-20 °C
≤ 24 stundas	≤ 36 stundas	≤ 1 mēneši

Uzglabājot -20 / -80 °C temperatūrā, atkārtota fēču parauga sasaldēšana/atkausēšana līdz 5 reizēm neietekmē testa īpašības.

Uzglabājot -20 °C temperatūrā, eluāta (no fēcēm) atkārtota sasaldēšana/atkausēšana līdz 3 reizēm neietekmē testa īpašības.

8.1. DNS sagatavošana no fēču paraugiem

Lai izolētu DNS no fēču paraugiem, izmantojiet RIDA®UNITY Universal Extraction Kit. Ievērojiet pareizās procedūras, kas aprakstītas RIDA®UNITY Universal Extraction Kit lietošanas instrukcijā (sadaļa Nukleīnskābju sagatavošana no fēču paraugiem).

9. Testa procedūra

Lietošanas sākumā ievietojiet RIDA®UNITY Norovirus I & II komplekta paraugus un reaģentus RIDA®UNITY sistēmā.

Pirms tam atbilstoši sajauciet **Reaction Mix**, **Negative Control** un **Positive Control**, izmantojot virpuļmaisītāju. Nemaisiet **Enzyme Mix** virpuļmaisītājā. Pēc tam īsi centrifugējiet visus komponentus.

Pārbaudāmo paraugu PĶR stobriņi iepriekš jānovieto iebūvētajā PĶR amplifikatorā. Pareizai reaģentu un palīgmateriālu ievietošanai sistēmā ir pieejami turētāji. Informāciju par ievietošanas procesu skatiet RIDA®UNITY sistēmas instrukcijās. Ievērojiet attiecīgos RIDA®UNITY sistēmas rokasgrāmatas punktus (sadaļa: Cikla veikšana).

RIDA®UNITY Norovirus I & II testu var izmantot tikai kopā ar RIDA®UNITY Internal Control Kit. Tas ļauj agrīni atpazīt iespējamo PĶR inhibīciju, pārbaudīt reaģentu integritāti un apstiprināt veiksmīgu nukleīnskābju ekstrakciju. Šī procedūra ir aprakstīta RIDA®UNITY Internal Control Kit lietošanas instrukcijā (sadaļa: Testa procedūra).

Automatizētā apstrāde ir aprakstīta RIDA®UNITY sistēmas rokasgrāmatā (sadaļa: Cikla veikšana).

9.1. Ierīces iestatījumi

9.1.1. Universālais reāllaika PĶR profils

Lai saskaņotu RIDA®UNITY analīzes, RIDA®UNITY Norovirus I & II analīze tika pārbaudīta universālajā profilā. Tas ļauj savstarpēji apvienot DNS un RNS analīzes. Tāpēc kopumā universālajā profilā reversā transkriptāze ir pirmā.

7. tabula. Universāls reāllaika PĶR profils instrumentam RIDA®UNITY

<u>Reversā transkripcija</u>	10 min, 58 °C
Sākotnējā denaturēšana	1 min, 95 °C
Cikli	45 cikli
<u>PĶR</u> Denaturācija	10 sek., 95 °C
Renaturācija/pagarināšana	15 sek., 60 °C
Temperatūras pārejas ātrums / palielinājuma ātrums	Maksimālais

Piezīme. Renaturācija un pagarināšana notiek viena posma laikā.

8. tabula. Universālais reāllaika PĶR profils instrumentam CFX96™ Dx

<u>Reversā transkripcija</u>	10 min, 58 °C
Sākotnējā denaturēšana	1 min, 95 °C
Cikli	45 cikli
<u>PĶR</u> Denaturācija	15 sek., 95 °C
Renaturācija/pagarināšana	30 sek., 60 °C
Temperatūras pārejas ātrums / palielinājuma ātrums	Maksimālais

Piezīme. Renaturācija un pagarināšana notiek viena posma laikā.

9.2 Noteikšanas kanālu iestatījums

9. tabula. Piemērotu noteikšanas kanālu izvēle

Reāllaika PQR instruments	Noteikšana	Noteikšanas kanāls	Piezīme
R-Biopharm RIDA®UNITY	Norovirus GII	FAM	SEEK kanāls GGII
	Internal Control	HEX	SEEK kanāls ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanāls GGI
Bio-Rad CFX96™ Dx	Norovirus GII	FAM	SEEK kanāls GGII
	Internal Control	VIC	SEEK kanāls ICD
	Norovirus GI	Cy5	SEEK kanāls GGI

10. Kvalitātes kontrole - reaģentu nestabilitātes vai derīguma termiņa norāde

Paraugi tiek novērtēti, izmantojot RIDA®UNITY sistēmas analītisko programmatūru RIDA®SEEK. **Negative Control** un **Positive Control** jāuzrāda pareizie rezultāti (skatīt 9. tabulu).

Positive Control ir 10^3 eksemplāru/ μ L koncentrācijā. Tā tiek izmantota kopskaitā 5×10^3 eksemplāros katrā PĶR ciklā.

Negative Control jau satur RIDA®UNITY Internal Control. Tā kā kontrolēs nav veidņu, mērķa kanālos nav paredzami nekādi signāli. Ir svarīgi pozitīvie signāli IC kanālā, ar kuru tiek noteikta iekšējā kontrole (skatīt 10. tabulu).

10. tabula. Derīgam PĶR ciklam jāatbilst šiem nosacījumiem:

Paraugs	Rezultāts	IC Ct	Mērķa gēns Ct
Pozitīvā kontrole	+	N/A*	Skatīt analīzes sertifikātā (Certificate of Analysis, Coa)
Negatīvā kontrole	-	Ct > 20	0

* Noteiktos apstākļos IC kanālam var būt pozitīvs signāls pozitīvajā kontrolē, un tāpēc tas nav jānovērtē.

Ja pozitīvā kontrole nav norādītajā Ct diapazonā, bet negatīvā kontrole ir derīga, visas PĶR reakcijas, tostarp kontroles, ir jāanalizē atkārtoti.

Ja negatīvā kontrole nav negatīva, bet pozitīvā kontrole ir derīga, visas PĶR reakcijas, tostarp kontroles, ir jāanalizē atkārtoti.

Ja norādītās vērtības netiek iegūtas, pirms testa atkārtošanas pārbaudiet šādus elementus:

- Izmantoto reaģentu derīguma termiņš
- Izmantojamā aprīkojuma darbība
- Pareiza testa procedūra

Ja pēc testa atkārtošanas nosacījumi joprojām netiek izpildīti, lūdzu, konsultējieties ar ražotāju vai vietējo R-Biopharm izplatītāju.

11. Izvērtēšana un interpretācija

Paraugu novērtēšana un interpretēšana tiek veikta, izmantojot RIDA®UNITY sistēmas analītisko programmatūru RIDA®SEEK.

Šobrīd standartizācijai nav starptautiski atzītas atsauces metodes vai materiāla. Kontroles materiāli ir metroloģiski izsekojami līdz iekšējiem R-Biopharm AG standartiem, pamatojoties uz specifiskiem sintētiskiem RNS amplikoniem.

Lai saņemtu plašāku informāciju par metroloģisko izsekojamību, lūdzu, sazinieties ar R-Biopharm AG.

Norādītās vērtības, diapazoni un sīkāka informācija ir atrodama pievienotajā Certificate of Analysis (CoA).

11. tabula. Rezultātu interpretēšana*

Noteikšana			
Norovirus GII	Norovirus GI	IC	Rezultāts
+	-	+/-	Norovīrusa GII ¹ nosakāms
-	+	+/-	Norovīrusa GI nosakāms
+	+	+/-	Norovīrusa GII ¹ un norovīrusa GI nosakāms
-	-	+	Mērķa gēni nav nosakāmi
-	-	-	Nederīgs

*+= pozitīvs

- = negatīvs

¹ Skatiet metodes ierobežojumus (10. sadaļa)

Paraugs ir pozitīvs, ja parauga RNS un **Internal Control** uzrāda pastiprinājuma signālu noteikšanas sistēmā.

Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu arī tad, ja parauga RNS uzrāda pastiprinājuma signālu, bet **Internal Control** pastiprinājuma signāls noteikšanas sistēmā nav redzams. Šajā gadījumā **Internal Control** noteikšana nav nepieciešama, jo vāju **Internal Control** signālu vai tā neesamību var izraisīt augsta amplikonu koncentrācija.

Paraugs ir negatīvs, ja parauga RNS neuzrāda pastiprinājuma signālu, bet **Internal Control** pastiprinājuma signāls ir redzams noteikšanas sistēmā. PĶR reakcijas inhibīciju un iepriekšēju ekstrakciju var izslēgt, nosakot **Internal Control**.

Paraugs ir nederīgs, ja parauga RNS un **Internal Control** neuzrāda pastiprinājuma signālu noteikšanas sistēmā. Paraugā ir inhibitori, vai ekstrakcijas laikā radās kļūda.

12. Metodes ierobežojumi

1. RIDA[®]UNITY Norovirus I & II tests nosaka GI un GII norovīrusu RNS neapstrādātos cilvēka fēču paraugos. No tā nevar atvasināt saistību starp noteiktās Ct vērtības līmeni un smagu klīnisko simptomu rašanos. Iegūtie rezultāti vienmēr ir jāinterpretē kombinācijā ar visiem klīniskajiem simptomiem.
2. Diagnozi nedrīkst noteikt, pamatojoties tikai uz molekulārbioloģiskās analīzes rezultātiem, bet vienmēr ir jāņem vērā pacienta slimības vēsture un simptomi.
3. Šis tests ir apstiprināts tikai automatizētai apstrādei, izmantojot RIDA[®]UNITY sistēmu.
4. Šis tests ir verificēts un validēts tikai fēču paraugiem.
5. Nepareiza eksemplāru ņemšana, transportēšana, uzglabāšana un apstrāde vai patogēna ielāde zem testa analītiskā jutīguma var izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.
6. PĶR inhibitoru klātbūtne var izraisīt kļūdaini negatīvus vai nederīgus rezultātus.
7. Tāpat kā visiem uz PĶR balstītajiem *in vitro* diagnostikas testiem, ir iespējams noteikt ļoti zemas mērķa sekvenču koncentrācijas, kas ir zem noteikšanas robežas (LoD 95 %). Iegūtie rezultāti ne vienmēr ir reproducējami.
8. Izmantojot RIDA[®]UNITY Norovirus I & II, mutācijas vai polimorfismi praimeru vai zonžu saistvietās var traucēt jaunu vai nezināmu variantu noteikšanu un izraisīt kļūdaini negatīvus rezultātus.
9. Pozitīvs testa rezultāts neliecina par dzīvotspējīgu organismu klātbūtni. Pozitīvs rezultāts norāda uz mērķa gēnu (norovīrusa GI un GII, ORF1/ORF2 savienojuma reģions) klātbūtni.
10. Tāpat, izmantojot RIDA[®]UNITY Norovirus I & II testu, tiek atklāti IV genogrupas norovīrusu, kas ļoti retos gadījumos var inficēt arī cilvēkus.
11. Šī analīze jāveic saskaņā ar labas laboratorijas prakses (LLP) noteikumiem. Veicot testu, lietotājiem precīzi jāievēro ražotāja norādījumi.

13. Veiktspējas raksturlielumi

13.1. Klīniskās veiktspējas raksturlielumi

RIDA[®]UNITY Norovirus I & II multipleksa reāllaika PQR tika salīdzināta ārējā laboratorijā ar CE marķētu atsaucē testu, pamatojoties uz 237 fēču paraugiem no pacientiem ar kuņģa-zarnu trakta infekcijas simptomiem.

Rezultāti uzrāda augstu jutību un specifiskumu norovīrusa GI vai GII noteikšanai cilvēka fēču paraugos.

12. tabula. Norovīrusa GI noteikšana

		Atsaucē PQR		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
RIDA [®] UNITY Norovirus I & II - Norovirus GI	Pozitīvs	33	0	33
	Negatīvs	3	201	204
	Kopā	36	201	237

Relatīvais jutīgums (95% TI)	91,7 % (77,5 % - 98,2 %)
Relatīvais specifiskums (95% TI)	100 % (98,2 % - 100 %)

13. tabula. Norovīrusa GII noteikšana

		Atsaucē PQR		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
RIDA [®] UNITY Norovirus I & II - Norovirus GII	Pozitīvs	126	0	126
	Negatīvs	4	107	111
	Kopā	130	107	237

Relatīvais jutīgums (95% TI)	96,9 % (92,3 % - 99,2 %)
Relatīvais specifiskums (95% TI)	100 % (96,6 % - 100 %)

13.2. Analītiskās veikspējas raksturlielumi

13.2.1. Noteikšanas robeža (LoD 95%)

Lai noteiktu LoD, tika mērīts pozitīvs paraugs (negatīvi apvienoti fēču paraugi, piesātināti ar pozitīviem klīniskiem fēču paraugiem) piecos atšķaidīšanas posmos (0,25 log posmos) katram mērķim ar 20 atkātojumiem katrā posmā vienā partijā. Pēc tam tika veikta varbūtības vienības analīze. Pēc tam aprēķinātā LoD tika apstiprināta ar 20 atkātojumiem katram mērķim uz aprēķināto atšķaidīšanas posmu/koncentrāciju.

Norovīrusa GI and norovīrusa GII RNS noteikšanai, izmantojot RIDA[®]UNITY Norovirus I & II testu UNITY sistēmā, tika noteiktas tālāk minētās noteikšanas robežas (LoD).

Šo mērījumu rezultāti ir parādīti 15. tabulā.

15. tabula. RIDA[®]UNITY Norovirus I & II testa noteikšanas robežas rezultāti norovīrusa GI un norovīrusa GII parametriem fēču paraugos.

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

(*) Izejšķīduma koncentrācijas relatīvais atšķaidījums. Pozitīvs klīniskais paraugs ar temperatūras diapazonu 26 - 27 °C

(**) Izejšķīduma koncentrācijas relatīvais atšķaidījums. Pozitīvs klīniskais paraugs ar temperatūras diapazonu 30 - 31 °C

Parametra norovīrusa GI LoD noteiktā vērtība fēču paraugos bija 4,85E-04 [atšķaidījuma koeficients].

Parametra norovīrusa GII LoD noteiktā vērtība fēču paraugos bija 5,98E-05 [atšķaidījuma koeficients].

Uzlabotajai darbplūsmai, izmantojot CFX96[™] Dx, šīs LoD vērtības tika apstiprinātas, pieņemot, ka joprojām tiek izmantots 2-3 reižu LoD diapazons.

13.2.2. Analītiskais specifiskums

Traucējošās vielas

PQR inhibitoru un traucējošo vielu klātbūtne var izraisīt kļūdaini negatīvus vai nederīgus rezultātus. Tādēļ tika pētīta dažādu vielu iespējamā ietekme, ņemot vērā to plašo lietojumu kuņģa un zarnu trakta infekciju gadījumos vai biežo sastopamību attiecīgajos paraugos.

Vielas, kas potenciāli varētu būtiski ietekmēt testa rezultātus, sākotnēji tika pārbaudītas lielā koncentrācijā (trīskārša dienas deva vai sliktākā gadījuma imitācija) interferences ekrānā.

Netika konstatēti 16. tabulā uzskaitīto vielu radīti traucējumi.

16. tabula. Potenciāli traucējošās vielas

Potenciāli traucējošā viela	Koncentrācija
Ciprofloxacīns-ratiopharm® 500 mg apvalkotās tabletes (ciprofloksacīns)	0,375 % [svars/tilpums]
Etanols	5 % uz eluāta bāzes
Guanidīnija hidrohlorīds	5 % uz eluāta bāzes
Cilvēka asinis	5 % [tilpums/tilpums]
Ģļotas	5 % [svars/tilpums]
Stearīnskābe/palmitīnskābe	40 % [svars/tilpums]

Krusteniskās reakcijas

Tika pētīti dažādi organismi (baktērijas, parazīti un vīrusi), kas parasti ir atrodami fēču matricā. Šajā testā pētītie mikroorganismi tika izvēlēti, jo tie ir dabiski sastopami fēču paraugos vai arī izraisa atbilstošos simptomus kā kuņģa un zarnu trakta patogēni. Analīzēm tika izmantotas baktēriju kultūras (no 10^7 līdz 10^9 KVV/mL) un sēnīšu kultūras vai attiecīgo organismu vīrusu kultūru izolāti (no pozitīviem fēču paraugiem).

RIDA®UNITY Norovirus I & II multipleksais reāllaika PĶR ir specifiska norovīrusam GI un norovīrusam GII. Ar tālāk uzskaitītajām sugām krusteniskā reaktivitāte netika konstatēta (skatiet 17. tabulu):

17. tabula. Potenciāli krusteniski reaģējošie organismi.

Organisms	Testa rezultāts*	
	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. Precizitāte

RIDA®UNITY Norovirus I & II reāllaika PĶR testa precizitāte tika noteikta tālāk minētajiem apsvēršanas līmeņiem.

Precizitāte *vienas* analīzes ietvaros: 5 kontroles paraugu noteikšana identiskos apstākļos ar 20 atkārtojumiem katram, izmantojot RIDA®UNITY.

Inter Precizitāte starp vairākiem testiem: 5 kontroles paraugu noteikšana 20 izpildēs pa divām reizēm 10 darba dienas (2 izpildes dienā), ko veic dažādos instrumentos reproducējamos apstākļos.

precizitātes testēšana *viena* testa *ietvaros* un starp vairākiem testiem tika veikta, izmantojot trīs dažādas partijas.

legūtie variāciju koeficienti attiecīgajiem mērījumiem, kas veikti, izmantojot RIDA®UNITY Norovirus I & II reāllaika PĶR testu instrumentā RIDA®UNITY nepārsniedza 4,82 % un instrumentā CFX96™ Dx testā - 3,25 %.

18. tabula. RIDA®UNITY Norovirus I & II testa precizitātes rezultāti attiecībā uz norovīrusu GI (RIDA®UNITY sistēma).

Ct vidējā vērtība/ CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām	
	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partijas	
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	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

19. tabula. RIDA®UNITY Norovirus I & II testa precizitātes rezultāti attiecībā uz norovīrusu GI (CFX96™ Dx).

Ct vidējā vērtība/ CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām	
	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partijas	
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	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

20. tabula. RIDA®UNITY Norovirus I & II testa precizitātes rezultāti attiecībā uz norovīrusu GII (RIDA®UNITY sistēma).

Ct vidējā vērtība/ CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām	
	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partijas	
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	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

21. tabula. RIDA®UNITY Norovirus I & II testa precizitātes rezultāti attiecībā uz norovīrusu GII (CFX96™ Dx).

Ct vidējā vērtība/ CV	Viena testa ietvaros			Starp vairākiem testiem			Starp vairākām partijām	
	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1. komplekta partija	2. komplekta partija	3. komplekta partija	1.-3. komplekta partijas	
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	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs	Negatīvs
	CV (%)	/	/	/	/	/	/	/

13.2.4. Analītiskā reaktivitāte

RIDA®UNITY Norovirus I & II multipleksais reāllaika RT-PĶR testa reaktivitāti pārbaudīja ar noteiktu dažādu norovīrusu genotipu I un II genogrupu paneli (skatiet 22. tabulu).

22. tabula. Analītiskās reaktivitātes testēšana

Celms	Rezultāts*	
	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	-	+

* + = pozitīvs (vismaz 2 no 3 atkārtojumiem ir pozitīvi)










- = negatīvs

14. Pārskatīto versiju vēsture





Versijas numurs	Sadaļa un apzīmējums
2022-08-09	Laidiena versija

15. Simbolu skaidrojums

Vispārīgi simboli

	Lietošanai <i>in vitro</i> diagnostikā
	Ievērojiet lietošanas instrukcijas
	Sērijas numurs
	Izlietot pirms
	Glabāšanas temperatūra
	Preces numurs
	Testu skaits
	Izgatavošanas datums
	Ražotājs

Testa specifiskie simboli

	Reakcijas maisījums
	Enzīmu maisījums
	Negatīvā kontrole
	Pozitīvā kontrole

16. Atsauces

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).